
3 2044 106 412 778


VE
RI
TAS



ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

SCEAUX. — IMPRIMERIE CHARAIRE.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

(JOURNAL DE MICROBIOLOGIE)

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

TOME VINGT-DEUXIÈME

1908

AVEC QUATORZE PLANCHES

PARIS

MASSON ET C[ie], ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (6[e])

22me ANNÉE JANVIER 1908. No 1

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LA BALERI
Trypanosomiase animale des territoires de la boucle du Niger.

PAR LE Dr G. BOUFFARD,

Médecin-major des troupes coloniales. Directeur du laboratoire du Haut-Sénégal et Niger, à Bamako.

La Baléri est une trypanosomiase animale qui sévit sur les chevaux, les ânes et les chiens, le long du Bani, le principal affluent du Niger, et le long de la Haute-Volta noire sur une bande de terrain d'environ 5 kilomètres de large. Elle a été observée par Cazalbou[1] sur les bords du Bani à un village appelé Garo, et nous venons de l'y retrouver après avoir étudié un autre foyer enzootique important, l'étroite vallée de la Haute-Volta noire.

De toutes les races qui peuplent les vastes régions qui séparent le Bani de la Volta et de son affluent, le Sourou, la race peuhl est la seule qui s'occupe sérieusement d'élevage.

Elle a ses centres principaux dans la province de Bandiagara et dans le nord de la province de Koury; on la retrouve dans la province de Koutiala, parallèlement au Bani, mais à 20 kilomètres environ de ce fleuve. Les Peuhls de la riche région d'élevage de Barani et du nord de la province de Koury exportent une partie de leurs troupeaux dans le sud de la colonie, vers les territoires de Bobo-Dioulasso et surtout dans les marchés de la Haute-Côte d'Ivoire et de la Gold-Coast où l'on peut facilement les vendre à bon prix.

Ils ont appelé « Baléri » (littéralement « sud ») la maladie qui leur tue une grande quantité d'animaux dans ces déplacements. Ce terme est aussi général que celui de Souma et il englobe

1. *Revue générale de médecine vétérinaire*, 15 mai 1907.

toutes les affections à évolution chronique qui sévissent sur les Equidés et les Bovidés et présentent, comme symptômes principaux, le larmoiement, le jetage nasal, les œdèmes des membres, l'amaigrissement rapide avec conservation de l'appétit.

Un Bambara de la région du Bani vous amènera son cheval qu'il dira atteint de Souma et vous pourrez trouver dans le sang le *T. Pecaudi*, alors que, dans la région de la Haute-Volta, le Peulh vous montrera son cheval atteint de Baléri et vous observerez parfois dans le sang le *T. Cazalboui*.

Pour remédier à la généralité de ces termes indigènes prêtant à confusion, il sera donc indispensable de faire le diagnostic bactériologique, et de plus il faut admettre une fois pour toutes que la Souma est la trypanosomiase due au *T. Cazalboui* Lav., et la Baléri celle dont l'agent pathogène est le *T. Pecaudi* Lav.

DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE

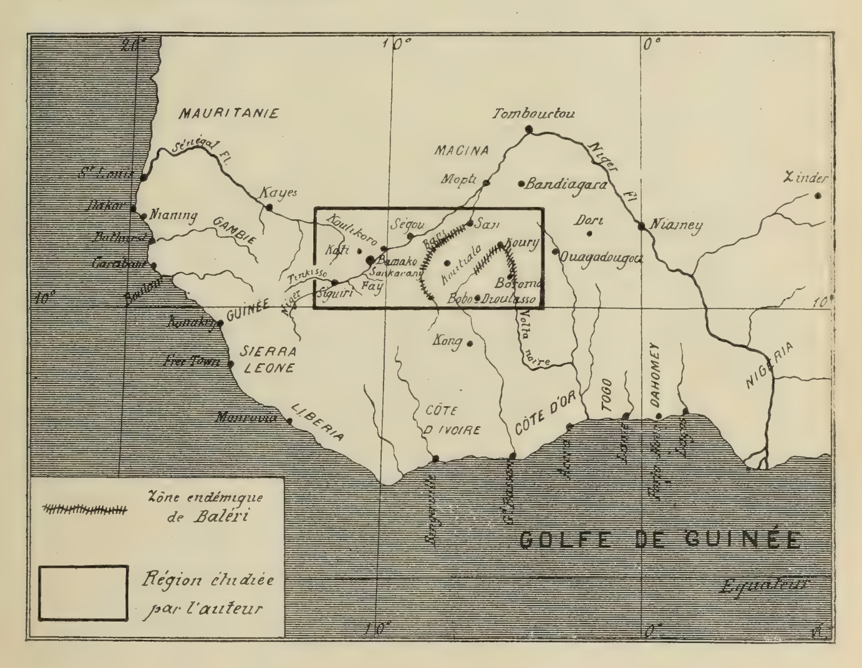
En 1903 [1], Cazalbou, vétérinaire au 2e escadron de spahis sénégalais à Ségou, sur le Niger, envoie 4 chevaux séjourner sur les bords du Bani à un petit village appelé Garo ; tous les 4 s'infectent sans que l'auteur ait pu déterminer exactement l'agent étiologique de la ou des maladies contractées. Aujourd'hui[2], il revient sur l'histoire médicale d'un de ces chevaux présentant dans le sang deux parasites et croit que cet animal a succombé à la Baléri dont l'agent pathogène, *T. Pecaudi* Laveran[3], se présente dans le sang sous deux formes très nettes. Après les expériences que nous venons d'entreprendre sur la Volta noire et le Bani, non seulement nous nous rangeons à l'avis de Cazalbou pour le cheval Douentza, mais nous croyons, quoiqu'il n'ait sigalé qu'une forme de parasite dans le sang des animaux infectés, qu'il a également eu affaire à la Baléri dans la contamination de chiens et de chats avec des *Glossina palpalis* capturées à Garo. D'ailleurs la trypanosomiase humaine est très rare sur le Bani et il est inadmissible que quelques mouches infectent des chiens de *T. gambiense* alors que des milliers de ces

1. *Revue de médecine vétérinaire*, 15 octobre 1904.
2. *Revue générale de médecine vétérinaire*, 15 mai 1907.
3. LAVERAN. *C. R. Acad. Sciences*, 4 février 1907, et ces *Annales*, mai 1907.
4. *C. R. Académie Sciences*, 17 septembre 1906.

insectes restent inoffensifs pour les pêcheurs constamment piqués.

Pécaud aurait étudié à Kati la Baléri chez des chevaux provenant de Koury. Nous venons de passer trois semaines dans la région arrosée par la Volta, de Koury à Boromo ; nous y avons trouvé l'infection naturelle chez le cheval, l'âne et le chien.

Si l'on jette un coup d'œil sur la carte de nos possessions de la boucle du Niger entre le 11e et le 15e parallèle, on voit que ces territoires sont arrosés par le Bani, la Volta noire et leurs nombreux affluents.



En réalité, beaucoup de ces affluents, tel que celui qui se jette dans le Bani au nord-est de San, ne sont que de simples dépressions de terrain envahies par les eaux du fleuve, débordant pendant trois mois de l'année, août, septembre et octobre ; d'autres tels que le Koni, affluent de la rive droite du Bani, et le Sourou, affluent de la rive gauche de la Volta noire, ne coulent pas toujours toute l'année ; certaines années peu pluvieuses, leur lit est desséché : le long de ces cours d'eau, on trouve peu de mouches et les épizooties sont exceptionnelles.

Ce n'est donc que le long du Bani et de la Volta, et de leurs gros affluents ne se desséchant jamais, que l'on observe différentes trypanosomiases dont la Baléri est sans contredit la plus répandue. On a décrit sous le nom de « forêt-galerie » la végétation intense qui couvre les rives de ces cours d'eau sur une largeur moyenne de 150 mètres ; au delà, sur quelques kilomètres, ce ne sont que des terrains bas, marécageux, souvent inondés, où il ne pousse que des hautes herbes; là vivent de nombreuses antilopes.

La Baléri fait également « galerie » le long de ces fleuves et dès que l'on s'en éloigne de quelques kilomètres, il semble qu'on ne la trouve plus. Dans les régions étudiées, sur le Bani et ses affluents, le Banifing, la Bagoé, le Baoulé, la Haute-Volta noire de Koury à Boromo, les chevaux s'infectent à coup sûr dans les régions très boisées ; certaines parties du Bani, aux rives déboisées, paraissent indemnes de trypanosomiases. A la résidence de Koury, à 250 mètres seulement du fleuve, les chevaux ne peuvent vivre ; ils sont fatalement condamnés et rares sont ceux qui ont pu résister un an. A 3 kilomètres de ces fleuves, les chevaux paient encore un lourd tribut à la maladie ; les ânes, moins sensibles, y vivent bien ; les régions d'élevage proprement dit ne commencent qu'à 15 kilomètres.

Evidemment, on pourra rencontrer, en dehors des zones à hachures de la carte, des cas de Baléri ; on aura certainement affaire à des cas isolés, à des animaux contaminés sur le bord des fleuves. La contagion d'animal malade à animal sain ne semble pouvoir se faire en dehors de la zone incriminée ; ce qui s'explique, d'après nous, par l'absence de la *Glossina palpalis* dont nous démontrerons plus loin le rôle important dans la transmission de cette trypanosomiase.

Bien que la Baléri ait été observée dans la vallée du Haut-Niger par Pécaud à Kati, par nous-même à Bamako, nous ne croyons pas à l'existence d'un centre enzootique important dans cette région. Les chevaux étudiés par Pécaud provenaient de Koury; nous n'avons jamais pu établir la provenance exacte du cheval malade que l'on nous amena au laboratoire de Bamako. D'autre part, sur plus de 200 Equidés ou Bovidés trypanosomiés que nous y avons examinés, nous nous sommes toujours, sauf le cas précité, trouvé en présence du *T. Cazalboui*.

La Baléri serait donc, d'après nous, dans la colonie du Haut-Sénégal et Niger, une trypanosomiase du Bani et de la Haute-Volta noire; on ne trouvera de foyer endémique que là où abondent les glossines. L'habitat de ces mouches, qui ne quittent jamais le bord du fleuve explique le terme, Baléri-galerie.

INFECTION NATURELLE

Nous l'avons observée chez le cheval, l'âne et le chien.

Chez le *cheval*, la symptomatologie ne semble pas aussi bien caractérisée que l'écrit Cazalbou, qui n'a d'ailleurs observé que quatre cas.

Nous avons retrouvé des symptômes communs à bien des trypanosomiases : la fièvre intermittente et élevée, le larmoiement, l'écoulement nasal muco-purulent, les lésions oculaires, conjonctivite et kératite interstitielle ; le poil, généralement hérissé et terne, reste parfois luisant.

Nous n'avons vu aucun des symptômes cutanés signalés par Cazalbou. Les œdèmes du fourreau et des boulets des membres postérieurs existent, mais les mêmes œdèmes se retrouvent dans la Souma ; il en est de même pour la réaction à l'éperon, l'attitude de l'animal et la faiblesse des reins. L'appétit est conservé; les lésions oculaires et les œdèmes sont parfois plus accusés dans la Baléri que dans la Souma ; cependant nous ne croyons pas que l'on puisse aisément différencier ces deux affections en n'ayant recours qu'à la clinique. L'indigène lui-même, qui vit constamment avec des troupeaux, ne fait point cette différence.

La durée de l'affection varie de 2 à 5 mois.

Nous n'avons pas eu l'occasion de faire d'autopsie ; les propriétaires d'animaux malades n'ont jamais consenti à nous les laisser; nous avons connu la date de la mort qui se produisait toujours loin de nous.

Chez *l'âne*, la Baléri évolue sans fracas et sans symptômes bien caractérisés, nous en avons observé cinq cas; c'est le larmoiement et le poil hérissé, s'arrachant facilement, qui nous avaient incité à examiner le sang; les parasites y étaient très nombreux; les ânes vivaient encore deux mois après le diagnostic bactériologique.

Chez le *chien*, la maladie est aiguë ; la mort survient du 5e au 15e jour; les œdèmes sont très accusés, surtout dans le tissu cellulaire sous-cutané, le long du thorax et dans la région sous-maxillaire; la fièvre est continue et très élevée, température moyenne du soir 40°; il y a perte de l'appétit et amaigrissement très rapide; dans un cas, la paralysie du train postérieur a été complète.

Le parasite est presque toujours présent dans le sang ; il y est non rare chez le cheval, assez nombreux chez l'âne et visible dans le sang du chien pendant toute la durée de la maladie ; il est très nombreux, chez cet animal, dans les derniers jours de la vie : la mort a lieu en hypothermie : températures relevées, 35°,5, 34° et 34°,5 chez trois chiens.

Sur la Volta noire et en certains points du Bani, les Glossines sont en si grand nombre que la quantité de virus inoculé doit être très forte; dans ces conditions, la durée de l'incubation peut être courte; elle a été de trois jours chez le chien contaminé sur la Volta, et de cinq chez le cheval Douentza de Cazalbou infecté sur les bords du Bani, à Garo, où les tsétsés sont très abondantes.

INFECTION EXPÉRIMENTALE

Nous avons varié le mode d'infection; le plus fréquemment employé a été l'injection sous-cutanée ; nous avons eu parfois recours à l'injection intrapéritonéale, et intraveineuse chez les animaux de grande taille. Chez le chat et le singe, nous avons utilisé avec succès l'ingestion de cadavres, en partie de cadavres d'animaux morts de Baléri, ou sacrifiés au cours de la maladie. Nous avons tenté trois fois sans succès l'infection par dépôt de sang très virulent sur les muqueuses oculaires et vaginales.

La durée d'incubation varie avec la quantité et la qualité du virus, avec le mode d'inoculation, avec l'âge de l'animal et sa résistance au virus. Elle peut être de trois jours, elle est en moyenne de cinq à huit; chez les *moutons* et les *chèvres* qui prennent une maladie chronique légère, elle a été de 9 jours avec une injection intraveineuse de 1/2 c. c. de sang très viru-

lent (50 parasites par champ [1]). Le *cobaye* se distingue de tous les autres animaux sensibles par la longueur de l'incubation qui n'est jamais inférieure à 20 jours et qui a été une fois de 53 jours.

Rat. — Privé de rats blancs, nous avons utilisé le rat gris du pays, en tout point semblable aux rats de nos greniers de France; il vit assez difficilement en captivité; on peut donc fixer exactement chez lui la durée de la maladie. Chez deux jeunes rats ayant reçu sous la peau 1/4 c. c. de sang de *Cercopithecus ruber* aux parasites rares, les trypanosomes sont apparus le 7e jour et devenaient très nombreux les 9e et 10e jours. Deux rats adultes, inoculés à la pipette avec un sang très virulent, avaient des parasites rares dans le sang le 4e jour; ces 4 rats sont morts au 18e jour de la maladie pour les premiers, au 16e jour pour les seconds; il est très probable que la Baléri n'a pas été la seule cause de ces quatre décès simultanés.

Nous avons inoculé 28 rats; la période d'incubation moyenne pour un animal adulte avec un virus à 15 parasites par champ injecté sous la peau a été de 4 jours; les parasites pullulent les 5e et 6e jours, puis réapparaissent irrégulièrement dans le sang jusqu'à la mort qui a rarement lieu avant le 20e jour. Nous avons observé qu'un rat, présentant un jour de nombreux parasites, n'en montrait plus le lendemain; les trypanosomes reparaissaient quelques jours après; le sang restait toujours infectieux.

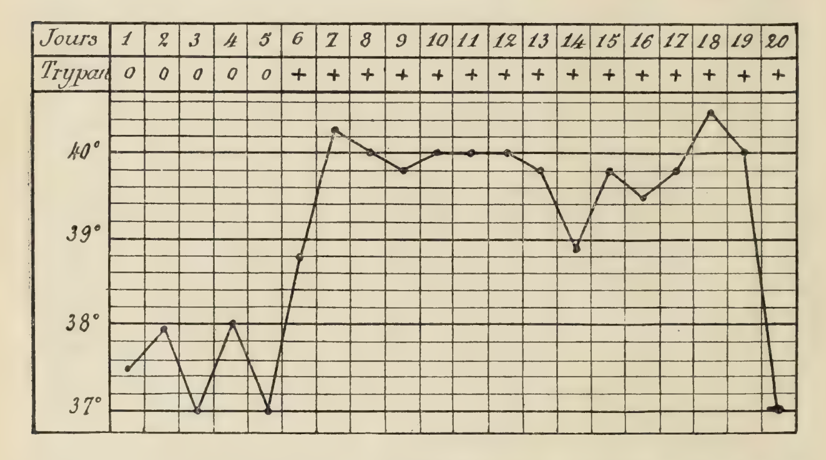
L'amaigrissement est le seul symptôme bien caractérisé. Les formes longues du *Tr. Pecaudi* dominent. A l'autopsie, on trouve une hypertrophie de la rate, très molle.

Chien. — Chez cet animal, la Baléri a une évolution très rapide; elle le tue généralement en 20 jours. La période d'incubation avec 1 c. c. d'un virus faible est de 8 jours. La maladie débute par une forte fièvre qui persiste jusqu'à la mort; l'animal reste couché, somnole toute la journée, mange très peu, maigrit très rapidement, a de la diarrhée, du larmoiement, de la kérato-conjonctivite et souvent de l'œdème des paupières, quelquefois de l'œdème des parois thoraciques; dans les jours

1 Chaque fois que dans ce travail il sera question de champ microscopique, champ s'appliquera à l'oculaire 4, objectif 7, de Stiassnie.

qui précèdent la mort, on observe parfois de la paraplégie du train postérieur. Nous n'avons jamais vu d'animal périr naturellement.

Le parasite est constamment présent dans le sang ; les formes longues dominent ; il est moins mobile que chez le chat. A l'autopsie, on note un épanchement très accusé de liquide citrin dans le péritoine, la plèvre et le péricarde ; ce liquide a quelquefois une teinte rosée. La rate est ramollie et hypertrophiée ; chez un animal de 15 kilogrammes, elle pesait 188 grammes. Le foie est très congestionné et, à la coupe, laisse couler beaucoup de sang ; les ganglions sont engorgés ; le cœur, très gros,



montre à sa surface une arborisation de vaisseaux sanguins très dilatés. Il existe des suffusions sanguines sous-muqueuses dans l'intestin, l'estomac, dans la paroi interne des oreillettes et des ventricules. Les méninges et les enveloppes de la moelle épinière sont très injectées. Dans les ventricules cérébraux, on trouve souvent un épanchement de liquide clair ; deux fois, cet épanchement était sanguinolent.

Chat. — C'est, après le chien, l'animal le plus sensible ; grâce à la facilité de s'en procurer dans les villages, à son peu de volume permettant d'en confier facilement six à un même porteur, le chat doit être choisi en Afrique occidentale par le bactériologiste en voyage pour faire un diagnostic sûr et rapide ; le chien est trop encombrant ; le chat est facile à manier, la goutte de sang nécessaire à l'examen microscopique étant pré-

levée à l'extrémité de la queue. Le diagnostic est rapide parce la Baléri sévit sur des animaux de grande taille qui permettent de prélever aisément 10 c. c. de sang dans la jugulaire ; l'injection sous-cutanée ou intra-péritonéale d'une grande quantité de virus réduit la durée de l'incubation à son minimum. Nous l'avons vue être de 5 jours avec une injection sous-cutanée de 5 c. c. d'un virus faible (2 à 3 parasites par champ) et de 2 jours 1/2 après une injection sous-cutanée de la même quantité d'un virus à 15 parasites par champ.

L'infection du chat éliminera la Souma qui se trouve avoir les mêmes zones endémiques que la Baléri. Évidemment, les deux parasites diffèrent beaucoup quand on les examine sur des frottis de sang colorés; mais leur mobilité excessive, qui les rend assez difficiles à diagnostiquer à l'examen du sang frais, justifie l'emploi du chat comme moyen de diagnostic au cours d'un voyage où chaque jour on fait 25 kilomètres à cheval, où le temps presse ; l'inoculation de cet animal qui demande à peine 5 minutes est bien plus rapide et plus simple que la fixation et la coloration d'une lame. D'autre part, 3 ou 4 jours après l'apparition du *T. Pecaudi* dans le sang, ce parasite se présente nettement avec ses caractères morphologiques et son dimorphisme très accusé qui permettent de le distinguer du *T. dimorphon*.

Le chat est donc une bonne pierre de touche pour diagnostiquer la Baléri.

Si 6 expériences suivies de 6 succès sont suffisantes pour être affirmatif, on peut assurer que l'infection par ingestion d'organes d'animaux atteints de Baléri est facilement réalisable.

Notre premier chat a été infecté avec le cadavre d'un rat mort de Baléri que nous lui avons donné à manger; l'incubation a été de 6 jours; les parasites, non rares le 7e jour, devenaient très nombreux le 15e; à la fin du 2e mois, l'examen du sang est négatif, et les trypanosomes ne sont jamais revus dans les multiples examens microscopiques pratiqués jusqu'à la mort de l'animal qui eut lieu le 80e jour ; le sang est toujours resté infectieux pour le rat.

Un deuxième chat est nourri, le 15 mars 1907, avec les organes abdominaux et thoraciques d'un rat très parasité et sacrifié une heure avant le repas ; 11 jours après, les parasites

apparaissent dans le sang ; le 20e jour, ils sont excessivement nombreux ; ils restent nombreux le 2e mois, non rares le 3e ; l'animal meurt le 108e jour.

Chez 2 chats, avec une pince, on dispose au fond de la gorge deux foies de rats très parasités sacrifiés depuis une demi-heure ; après la déglutition, on leur lave à l'eau la gueule qui ne montre à un examen minutieux aucune trace de blessure. L'infection est réalisée après 14 jours d'incubation. Ces animaux, par mesure d'économie, sont sacrifiés à la fin du 3e mois ; les parasites sont encore nombreux dans leur sang.

Chez deux chats, l'expérience précédente est refaite dans des conditions identiques ; mais le lavage à l'eau est suivi d'un nettoyage de la cavité buccale avec un tampon trempé dans une solution de sublimé au millième ; les deux animaux s'infectent ; l'incubation a été de 15 jours.

D'autres chats ont été infectés par injection sous-cutanée ; ce mode d'infection diminue la période d'incubation qui varie de 3 à 6 jours suivant la qualité et la quantité du virus.

Deux chats ont reçu dans chaque œil 2 gouttes de sang très virulent ; ils ne se sont point infectés : une inoculation sous-cutanée a montré qu'ils n'étaient pas réfractaires.

La Baléri présente chez cet animal les symptômes suivants : amaigrissement rapide sans perte d'appétit ; fièvre assez élevée au début qui disparaît très rapidement ; œdèmes rares, affectant principalement les paupières ; chute des poils sur le sommet du crâne et en avant des oreilles, occasionnant une sorte de calvitie ; lésions oculaires fréquentes. Parmi ces dernières, prédomine la kératite interstitielle qui manque bien rarement ; nous avons vu trois fois cette kératite guérir et l'œil reprendre sa transparence ; deux fois, nous avons noté une récidive suivie de guérison.

La durée de la maladie varie avec la qualité du virus ; nous avons tué avec un virus-âne des bords de la Volta un jeune chat en 15 jours, un chat adulte en un mois ; au 3e passage sur le chat, le virus ne tuait plus qu'en 2 mois 1/2. D'après nous, la durée moyenne de la Baléri chez le chat est de 3 mois. Nous n'avons jamais observé de guérison ; la mort a toujours lieu en hypothermie ; l'animal cesse de manger 24 heures avant et se couche.

Le parasite est toujours présent dans le sang pendant le premier mois de la maladie; à partir du 2e mois, sa présence peut êtreintermittente. Les formes longues dominent; les formes courtes et larges sont toujours visibles.

A l'autopsie la seule lésion caractéristique est l'hypertrophie de la rate.

Singes — Nous avons surtout expérimenté avec le *Cercopithecus ruber* qui s'infecte très facilement; les *Cerc. viridis* et *callitrichus* sont sensibles; le cynocéphale est réfractaire. Nous avons surtout utilisé l'injection sous-cutanée; nous avons, sans obtenir de résultat positif, déposé sur les muqueuses conjonctivales et vaginales quelques gouttes de sang très virulent. Nous avons tenté une seule fois l'infection par ingestion. L'animal (*Cerc. ruber*) a avalé 10 grammes de foie de chat sacrifié 1 heure avant le repas; il s'est infecté.

La durée de l'incubation varie de 6 à 15 jours; elle a été de 6 jours avec 1/5 c. c. de sang de rat à 20 parasites par champ.

Le début de la maladie est caractérisé par une forte fièvre, qui, continue et au voisinage de 40° pendant le premier septénaire, diminue pour se maintenir aux environs de 38° pendant une dizaine de jours, puis devient intermittente : l'amaigrissement est asssez rapide; l'appétit est conservé, sauf dans quelques cas très aigus où la mort a lieu vers le 10e jour; l'appétit est alors très diminué, et une très forte fièvre (température 41°) jette l'animal dans un état d'abrutissement et de somnolence dont il est difficile de le tirer. L'œdème des paupières existe souvent avec un très léger larmoiement; les ganglions sont hypertrophiés et le sus-épitrochléen se sent très bien. Pas de lésions oculaires. La somnolence est très accusée vers la fin de la maladie qui dure de 10 jours à 1 mois 1/2. Dans les derniers jours de la maladie, l'hypothermie est très marquée; le thermomètre placé dans le rectum accuse de 34 à 35°. La mort n'est pas fatale et la guérison est survenue trois fois sur 10 animaux inoculés.

Le parasite est toujours présent dans le sang et parfois en très grande quantité ; un mois après la disparition des trypanosomes chez les cercopithèques guéris, 2 c. c. de sang, en injection sous-cutanée, n'infectaient plus le rat ni le chat.

A l'autopsie, on note des épanchements dans les séreuses et

les ventricules, un cœur feuille morte, une rate hypertrophiée et molle, un foie très congestionné, un engorgement ganglionnaire généralisé.

Cobaye. — Le professeur Laveran a inoculé 25 cobayes ; la durée moyenne de la maladie, toujours mortelle, a été de 40 jours, minima : 18 et 23 jours; maxima : 97 et 91 jours.

Jusqu'à ce jour, nous avons expérimenté avec 3 virus différents provenant du cheval, de l'âne et du chien; nous avons constaté que nos cobayes, nés à Bamako de père et mère importés de France, contractaient une affection à évolution lente qui, depuis 3 mois pour le cheval, 2 mois 1/2 pour l'âne, 2 mois pour le chien, non seulement n'a pas tué nos animaux, mais paraît les laisser en bon état de santé; on ne note chez eux aucun symptôme morbide.

Pour infecter nos cobayes, nous avons eu recours à l'injection sous-cutanée. La durée de l'incubation est très longue; elle a été de 26 jours avec un virus qui, à la même dose, infecte le chien en 6 jours, le chat en 10; de 23 jours avec le virus-âne infectant le chat en 4 jours; de 24 jours avec 1/4 c. c. de sang très virulent; enfin de 52 jours avec 1 c. c. de sang prélevé dans le cœur d'un cobaye aux parasites nombreux, 10 minutes après sa mort accidentelle (rupture de la rate). Ce cobaye, le seul que nous ayons perdu, est mort au 3e mois de son infection, à peu près subitement d'une rupture spontanée de la rate. Le fait n'est pas rare en trypanosomiase.

Le parasite avec ses deux formes, toujours très distinctes, est constamment présent dans le sang, et souvent en nombre considérable; il y est très mobile; les formes courtes sont aussi fréquentes que les longues. Si le chat, par son peu de volume et la courte durée d'incubation, est à recommander pour un diagnostic rapide en cours de voyage, le cobaye, qui ne peut être utilisé dans le même but à cause de la lenteur de l'incubation, reste l'animal de choix pour le transport du virus à longue distance, du Niger en France par exemple, et la conservation au laboratoire du *T. Pecaudi*.

Bovidés. — Le fait de ne point rencontrer, chez les Bovidés, la Baléri dans les régions où elle sévit sévèrement sur les Équidés pouvait faire prévoir leur résistance à cette trypanosomiase. En effet, la maladie expérimentale est chronique et paraît évo-

luer sans autre symptôme qu'un léger amaigrissement; il est vrai que les circonstances nous ont contraint d'expérimenter avec le bœuf bambara sans bosse, assez résistant à la Souma. Il est possible que le zèbre soit plus sensible. La durée de l'incubation est en moyenne de 10 jours avec 1/2 c. c. de sang aux parasites nombreux (15 à 20 par champ). Au début, les parasites sont nombreux dans le sang périphérique et la forme longue domine; au deuxième mois, les formes larges, assez rares au début, deviennent nombreuses ; la présence du parasite dans le sang est alors intermittente. Nos animaux sont encore vivants en septembre; ils ont été inoculés en juin et juillet. Leur sang est toujours infectieux pour le rat, même lorsque l'examen microscopique est négatif depuis 8 jours.

Moutons et Chèvres. — Chez un mouton à laine du Macina inoculé à la pipette avec un sang très virulent (50 parasites par champ) de rat, les trypanosomes apparaissent rares le 9e jour et demeurent visibles très rares pendant 4 jours, puis disparaissent du sang pour ne plus être revus pendant 1 mois 1/2 d'examens quotidiens; jusqu'au 3e mois, le sang infecte le rat. 3 inoculations intraveineuses, à 2 jours d'intervalle chaque, de 10 c. c. de sang virulent de chien ne font point reparaître le parasite; l'animal guéri a l'immunité. Un autre mouton à laine et 2 moutons à poil ont également guéri.

Chez la chèvre, l'affection est aussi bénigne et guérit assez vite.

Porc. — Un porc reçut sous la peau 1/4 c. c. de sang très virulent de cobaye ; le 15e jour apparaissent dans le sang des parasites très rares, qui deviennent assez nombreux le 20e jour; l'animal maigrit, mais ne présente aucun autre symptôme bien caractéristique; les parasites apparaissent dans le sang d'une façon intermittente ; l'animal est encore vivant 4 mois après l'inoculation.

2 coqs et 1 pigeon se sont montrés réfractaires à l'inoculation sous-cutanée.

AGENT PATHOGÈNE

L'agent pathogène est le *T. Pecaudi* Laveran. Dans les infections naturelle et expérimentale, le parasite s'est toujours présenté avec ses 2 formes bien caractéristiques décrites par

le professeur Laveran (*l. c.*) ; généralement la forme longue est plus fréquente ; certaines de ces formes à long flagelle libre mesurent 40 μ sur 1 μ 5 ; elles sont bien plus mobiles que les formes larges, et se meuvent dans tous les sens, mais de préférence flagelle en avant ; l'extrémité postérieure, effilée souvent en tronc de cône, avec son centrosome à 2 ou 3 μ de cette extrémité, ressemble parfaitement à la tête de brochet du parasite décrit par Dutton et Todd dans la trypanosomiase des chevaux de Gambie.

Les formes courtes sans flagelle libre, toujours visibles dans le sang des animaux malades, particulièrement nombreuses chez le cobaye, ont plus souvent 4 μ que 3 μ de large sur 14 μ à 20 μ de long ; certains parasites, sans trace de division, mesuraient 6 μ de large ; la membrane ondulante, peu plissée, n'a parfois que 2 plis. Le protoplasma est très granuleux et souvent vacuolaire au niveau du centrosome.

A l'examen du sang frais, chez le chat par exemple, nous avons vu, dans le protoplasma des formes longues, des points réfringents sphériques, très mobiles, se déplaçant sur toute la longueur du parasite ; nous pensons avoir eu affaire à des granulations protoplasmiques.

Le parasite peut vivre 4 heures sous la lamelle à la température extérieure de 26° ; pendant la 1re heure, il est excessivement mobile ; les formes longues quittent le champ d'observation, mais ne le traversent jamais en flèche comme le *T. Cazalboui*. Nous n'avons jamais vu le *T. Pecaudi* s'agglutiner dans le sang du rat mis sous lamelle, ainsi que le signalent Laveran et Mesnil pour le *T. dimorphon*.

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Le diagnostic basé sur la clinique ne nous paraît point aussi facile que le dit Cazalbou, qui a le tort de généraliser et de croire que les symptômes cutanés ressemblant aux plaques de dourine sont constants chez les animaux atteints : nous ne les avons pas encore observés et nous avons étudié 8 chevaux. Quant à la paraplégie, si c'est un symptôme fréquent, il n'apparaît malheureusement que tardivement, à la dernière phase de

la maladie ; pour une bonne prophylaxie et une thérapeutique efficace, le diagnostic a besoin d'être fait avant l'apparition de ce signe.

Dans le 1[er] mois de la maladie, la symptomalogie ne diffère point, ou diffère si peu de celle d'autres trypanosomiases de la région, telle que la Souma, qu'il sera prudent, pour aller vite et éviter des mécomptes, d'avoir recours au diagnostic bactériologique. Dans les zones d'endémicité de la Baléri, on rencontre aussi la Souma ; le diagnostic avec le *T. Cazalboui* est facile ; s'il y avait doute, il n'y aurait qu'à inoculer un animal réfractaire à la Souma, comme le chat ou le chien.

Le dimorphisme d'un parasite, qui se maintiendra chez tous les animaux d'expérience avec conservation du flagelle libre des formes longues et se fixera bien chez le cobaye, permettra d'éliminer le *T. dimorphon* dont les formes, sans flagelle libre, sont souvent plus courtes et surtout plus minces que les formes sans flagelle du *T. Pecaudi*.

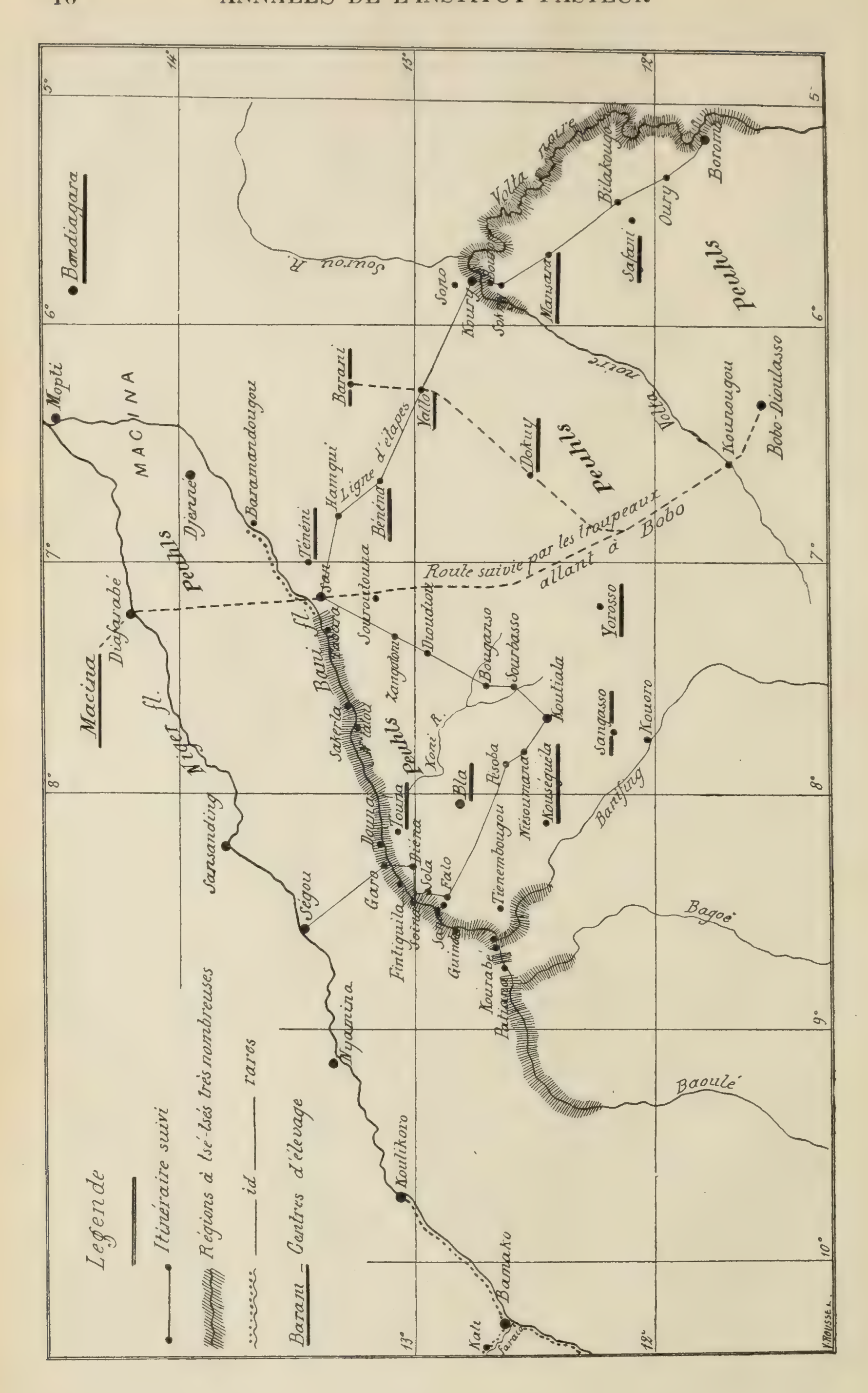
La réaction Laveran-Mesnil, sensibilité d'un animal guéri de Baléri à toute trypanosomiase différente, est aussi un précieux moyen de diagnostic pour éliminer le *T. dimorphon* ; c'est une méthode qui serait facile à employer, puisque l'on peut assez aisément avoir un *Cercopithecus ruber* guéri de Baléri.

Les formes larges et courtes, toujours présentes dans le sang, seront généralement suffisantes pour éviter la confusion avec le Nagana, Surra, et autres trypanosomiases dont l'agent étiologique ne se présente jamais sans flagelle libre.

ÉTIOLOGIE

La version indigène donne peu d'indications : les Equidés et les Bovidés meurent parce que l'herbe des bords des fleuves est mauvaise ; l'ingestion de viande de caïman pendant l'hivernage est fatale aux chiens, disent les pêcheurs du Bani.

Un fait autrement intéressant est l'abondance des tsétsés le long des fleuves et rivières où sévit la Baléri (voir la carte p. 16). Sur le Bani, ces mouches commencent en amont de Djenné, à un petit village appelé Baramandougou ; elles y sont rares jusqu'à Tabara, en amont de San, pour devenir excessivement nombreuses à Douna et Garo ; de Garo au Banifing, elles existent dans la majeure partie du parcours, bien qu'en


Légende
Itinéraire suivi
Régions à tsé-tsés très nombreuses
id ___ rares
Barani – Centres d'élevage
Bandiagara
Mopti
Macina
MACINA
Djenné
Baramandougou
Diafarabé
Niger fl.
peuhls
Sansanding
Ségou
Nyamina
Koulikoro
Bamako
Kati
Barani
Ligne d'étapes
Yallo
Bénéna
Ténéni
San
Bani fl.
Sakerla
Touna
Route suivie par les troupeaux allant à Bobo
Dokuy
Kounougou
Bobo-Dioulasso
Volta noire
Sourou R.
Sono
Mansara
Safani
Oury
Boromo
Yorosso
Koutiala
Sangasso
Kouoro
Banifing
Bagoé
Baoulé
Bla
Kouséguéla
Sourbasso
Tiénembougou
Fintiguila
Garo
Sola
Falo

certains endroits déboisés, elles fassent complètement défaut. Le village de Guindo, où l'indigène a des troupeaux de bœufs et quelques chevaux, en est un exemple. A 5 kilomètres environ, en aval et en amont, les rives du fleuve sont nues, et il n'y a point de tsétsés. Pareil fait s'observe à Patiana; là cependant les chevaux ne peuvent vivre; une mission catholique, installée près de ce village depuis cinq ans, en a tenté l'élevage: elle a perdu tous ses animaux. A 5 kilomètres du Bani, l'élevage devient possible. Les Bovidés paraissent y bien vivre; j'ai vu un beau troupeau de 40 vaches.

Le Banifing est une rivière assez étroite, 80 à 100 mètres de large à son embouchure, au cours sinueux et au lit encaissé entre de hautes berges couvertes d'une végétation très touffue; les glossines y sont en telle quantité que les pêcheurs eux-mêmes l'ont désertée; on ne trouve aucun village sur ses rives; c'est le domaine des hippopotames, très nombreux, et des caïmans: la vallée étroite nourrit des troupeaux d'antilopes.

On peut en dire autant de la Bagoé et du Baoulé, sur lesquels nous avons navigué pendant 4 jours; sur de vastes bancs de sable, où les mouches sont relativement peu nombreuses, on trouve quelques huttes de pêcheurs; tous les villages sont éloignés d'au moins 5 kilomètres de ces cours d'eau. Parmi les nombreuses mouches recueillies, nous n'avons trouvé que les *Gl. palpalis* et *tachinoïdes*.

La Haute-Volta noire, de Koury à Boromo, sur environ 300 kilomètres, coule entre des berges élevées et très boisées; on peut difficilement se faire une idée de la quantité considérable de tsétsés que l'on y rencontre; sur ces bords, comme sur ceux du Banifing, on ne trouve aucun village.

Les glossines ne quittent jamais le lit du fleuve et ne s'en éloignent d'une centaine de mètres qu'exceptionnellement, lorsque la brousse épaisse de la berge se continue dans l'intérieur des terres. *Dans les régions parcourues, là où ces mouches sont très nombreuses*, sur le Bani à Douma et Garo, sur le Banifing, sur la Haute-Volta noire de Koury à Boromo, et probablement tout le long de ce fleuve jusqu'à sa source, *aucun animal domestique ne peut vivre*; l'homme lui-même fuit devant la distribution par trop généreuse de véritables piqûres d'aiguilles. Parmi ces glossines, c'est la *Gl. palpalis* qui domine; sur des

milliers de mouches examinées, nous en avons trouvé 80 0/0, et 20 0/0 seulement de *Gl. tachinoïdes*. Nous avons capturé 3 échantillons de *Gl. morsitans*.

Avant d'avoir l'occasion de parcourir des zones endémiques de Baléri, nous avions étudié au laboratoire de Bamako le rôle possible des tsétsés et en particulier de la *Glossina palpalis* dans la transmission de cette trypanosomiase. A Bamako, on peut assez facilement se procurer quelques *Glossina palpalis*. A 4 kilomètres environ à l'ouest de la ville, coule un petit affluent du Niger appelé le Faraco ; sur ses rives où la végétation est très dense, on peut aisément prendre chaque jour une trentaine de mouches. Dans nos chasses, nous avons observé que la tsétsé pique plus volontiers un animal qui sort de l'eau ; aussi, pour capturer ces insectes, avions-nous soin d'asperger avec l'eau de la rivière un veau qui devenait aussitôt un appât très recherché des glossines. N'obtenant pas d'infection naturelle chez cet animal ni chez le chien plus sensible, nous avons fait piquer un cobaye très parasité par 10 mouches; 12 et 24 heures après, nous les avons nourries sur des cobayes neufs ; l'infection ne s'est point produite. Après un demi-repas fait sur ce même cobaye très parasité, nous avons porté 6 mouches sur un cobaye neuf ; elles ont immédiatement achevé leur repas sans qu'il y ait eu contamination. Le sang de tous ces animaux mis en expérience a été examiné pendant deux mois.

Quand il nous a été donné, en juin, de pouvoir voyager à travers les essaims de glossines de la Haute-Volta noire, nous avons préparé de nouvelles expériences, mais en utilisant le chien, animal très sensible. Nous avons pensé que la contamination de cet animal exposé aux piqûres de tsé-tsé dans une embarcation où l'on ne trouverait aucune autre mouche fréquente, plaiderait en faveur du rôle positif de ces insectes.

La Haute-Volta noire est le fleuve par excellence pour ce genre d'expérience ; assez étroit, 40 mètres environ de largeur, il coule, encaissé la majeure partie de l'année entre des rives excessivent boisées : cette végétation intense est surtout formée de broussailles épaisses qui tapissent les bords du fleuve, au point d'exiger parfois une demi-heure de navigation avant de rencontrer la clairière favorable à l'accostage. Nous avons navigué pendant 4 jours sur cette infernale Volta, au

milieu d'un essaim continu de glossines, seules mouches piquantes rencontrées, qui nous harcelaient de l'aube jusqu'à la nuit, et dont l'aiguillon traversait souvent deux épaisseurs de vêtements de toile; par clair de lune, nous avons encore été piqués à 9 heures du soir.

On ne sent point la mouche se poser sur la peau, mais elle signale douloureusement sa présence par une piqûre en tout point comparable à celle d'une aiguille; c'est une douleur fugace qui ne persiste pas comme celle du moustique ou de la guêpe; elle est immédiatement ressentie, ce qui explique le geste de l'indigène pour chasser l'insecte qui ne s'est pas encore nourri. Toutes les piqûres ne sont pas douloureuses; certaines passent inaperçues et permettent à la mouche d'achever tranquillement son repas. Quand on voyage avec des chiens dans les régions à tsétsé, au début l'animal se défend, mais il a à répondre à des attaques si nombreuses qu'il y renonce bientôt et se laisse saigner. Sur notre peau, la piqûre ne laisse aucune trace; sur la peau de la région abdominale du chien, sur celle du cobaye, on note une petite ecchymose violacée de 15 millimètres environ de diamètre. Quand la piqûre passe inaperçue, l'insecte se gorge de sang et son abdomen plat triple de volume; il reste de 1 à 2 minutes collé à l'épiderme, les palpes maxillaires toujours en continuité avec l'axe du corps et la trompe, devenue perpendiculaire à cet axe, est enfoncée jusqu'au bulbe dans la peau.

Nous naviguions à la perche et notre barque ne s'arrêtait chaque jour que 2 heures à la tombée de la nuit; tout le reste du temps, nous étions au milieu du fleuve, exposés aux piqûres des glossines.

Nous avions avec nous un jeune chien d'un an qui avait fait en février un voyage en Haute-Guinée où les glossines assez nombreuses étaient à cette époque-là moins voraces que celles de la Haute-Volta au mois de juin. Dans les affluents du Haut Niger, le Tinkisso, le Fay, le Sankarani, ces mouches piquaient peu les laptots et encore moins le chien.

Cet animal qui, à différentes reprises au laboratoire de Bamako, avait reçu 50 c. c. de sang virulent de Souma sans s'infecter, était en parfait état de santé quand il s'embarquait avec nous à Koury où nous n'avions séjourné que 36 heures. Il fut tellement piqué dès le premier jour du voyage, qu'il chercha à fuir et se jeta à l'eau, gagnant la rive à la nage; nous dûmes l'attacher. Nous n'exagérons nullement en estimant à 200 le nombre de

mouches qui, chaque jour, se gorgeaient de sang sur notre chien. Le surlendemain de notre arrivée à Boromo, 6 jours après le départ de Koury, l'animal avait le nez chaud, refusait de manger, restant couché toute la journée; l'examen microscopique du sang fut positif : sous la lamelle, nous trouvions une dizaine de parasites très mobiles, très longs, avec flagelle libre, accompagnés de 3 formes courtes très larges. 1/2 c. c. de sang est injecté sous la peau d'un chat et d'un cobaye.

Le chien a le soir une forte fièvre, température 41°; sa démarche est hésitante, le pourtour des yeux légèrement œdématié et le paquet ganglionnaire sous-maxillaire très engorgé; l'amaigrissement est déjà apparent, surtout à l'arrière-train. Le 4e jour de l'infection, on note de l'œdème sur tout un côté du corps et dans la région sous-maxillaire; l'animal refuse toute nourriture, la fièvre est très élevée, température 41°,5, la démarche difficile; les parasites sont très nombreux dans le sang; les formes longues dominent; leur mobilité et les dimensions de certaines atteignant 40 μ, ainsi que la présence de formes larges très distinctes, permettent dès ce moment d'affirmer le diagnostic de Baléri.

Les 5e et 6e jours, les symptômes persistent, graves et menaçants, et une paraplégie légère de l'arrière-train apparaît alors; l'amaigrissement est très accusé, les parasites sont toujours nombreux dans le sang. La paraplégie, qui s'accentue le lendemain, devient le 8e jour de la paralysie de tout le train postérieur; comme nous sommes en route pour regagner Koury par voie de terre, nous abandonnons au campement notre animal à l'agonie.

Le jeune chat inoculé présente des parasites rares dans le sang le 7e jour; les trypanosomes devinrent rapidement nombreux; l'animal qui mangeait beaucoup était d'une maigreur excessive, et sans autres symptômes, sans œdème, sans lésions oculaires, il mourut le 19e jour. Un chat adulte, inoculé avec son sang, nous a fait la Baléri type de cette espèce animale; actuellement malade depuis un mois et demi, très maigre, il présente de la kératite interstitielle double, et a des parasites nombreux dans le sang; l'appétit est conservé. Chez le cobaye, la durée de l'incubation a été de 24 jours; actuellement, 2 mois après l'apparition des parasites dans le sang, il est en excellent état, a de nombreux trypanosomes dans le sang et les formes larges y sont fréquentes.

Nous pouvons donc affirmer que notre chien a bien contracté la Baléri.

La *Glossina morsitans* étant très rare sur la Haute-Volta, ce sont les *Glossina palpalis* et *tachinoïdes*, surtout la première, qu'il faut incriminer dans la transmission du *T. Pecaudi*. Il est assez difficile d'expérimenter avec les petits animaux de laboratoire qui ne sont point piqués naturellement par les mouches; il faut capturer ces insectes sur un autre animal quand ils commencent à prendre leur repas; ils le continuent volontiers sur les flancs épilés du cobaye. Est-ce parce que ces glossines ont déjà débarrassé leur trompe des germes qu'elle pouvait recéler et versé dans l'épiderme du laptot ou de l'animal sur lequel on les

capture la totalité du virus qu'elles peuvent convoyer? ou bien est-ce parce que le nombre utilisé était insuffisant? Toujours est-il qu'un cobaye piqué par trente mouches, au cours du voyage fatal au chien, ne s'est point infecté.

Sur le Bani, principalement sur ses affluents, le Banifing, la Bagoé, le Baoulé, la navigation est tout aussi désagréable que sur la Volta noire; les glossines y sont très abondantes; nous y avons voyagé pendant 15 jours, emmenant avec nous 3 chiens, 2 adultes et 1 jeune; ces animaux ont été très piqués, et exclusivement par cette catégorie de mouches piquantes; au cours du voyage, les parasites sont apparus dans le sang de nos animaux, successivement les 9e, 13e et 14e jours; nous ne nous sommes pas contentés des caractères morphologiques du trypanosome pour diagnostiquer la Baléri; l'inoculation au chat et au cobaye a bien montré que nous avions affaire au *T. Pecaudi*.

Si les taons et les stomoxes jouent un rôle dans la transmission de la Baléri, il est certainement très effacé, puisque cette trypanosomiase ne quitte pas les bords immédiats des fleuves, et qu'elle ne paraît exister que là où il y a des tsétsés.

Existe-t-il un réservoir à virus en dehors de l'animal malade? Les auteurs anglais et allemands (Koch) ont observé que les glossines piquaient l'hippopotame et le caïman; au cours de notre voyage, partout où les tsétsés étaient abondantes, les caïmans et les hippopotames étaient nombreux; un autre facteur qui ne nous paraît point négligeable est la présence dans les vallées des fleuves parcourus, de troupeaux d'antilopes diverses et de sangliers. Il est bien difficile d'expérimenter avec l'hippopotame. Il est bien plus facile de tenter la même expérience avec le caïman, surtout sur le Bani où les Somonos et Bosos, races de pêcheurs, en capturent souvent dans leurs filets; nous avons pu, à San, en avoir un de 2 mètres de long; l'examen microscopique du sang a été négatif; l'inoculation de 8 c. c. de sang du cœur sous la peau d'un chien n'a été suivie d'aucun résultat. A Garo, 1/4 de c. c. du sang d'un jeune caïman a été sans effet injecté à un chien; le foie de l'animal a été mangé par un chat sans suites intéressantes.

Sur la Haute-Volta, nous avons navigué pendant 12 heures à travers un nuage tellement compact de chauves-souris, sorte

de grosses roussettes, que nous avons pu en tuer 25 d'un coup de fusil ; l'examen du sang frais et coloré a été négatif. Nous avons tué un *Cercopithecus viridis* adulte : rien dans le sang.

PROPHYLAXIE

Elle est tout entière dans la destruction du réservoir à virus et de l'agent de transmission.

a) Le seul *réservoir à virus* que nous connaissions pour le moment est l'animal malade dont le sang contient des parasites pendant toute la durée de la maladie ; quand la mort approche, l'animal se couche et ne réagit plus aux piqûres ; il n'a plus la force de lutter et est envahi par de nombreuses mouches piquantes qui, après la mort, pourront être dangereuses pour les animaux qui paissent dans le voisinage. En attendant un médicament pouvant jouer un rôle prophylactique efficace en faisant disparaître le parasite du sang, — et l'atoxyl, quand les différentes études en cours nous auront mieux fait connaître son emploi, sera peut-être ce médicament, — l'abatage de l'animal dès le début de la maladie nous semble tout indiqué. On ne l'obtiendra que bien difficilement de l'indigène qui escompte toujours une guérison possible; on pourrait cependant l'y contraindre. Il faudra aussi se méfier de l'âne qui, atteint, porte de nombreux parasites dans le sang sans en être trop incommodé. Il faudra conseiller aux éleveurs d'éliminer cet animal du voisinage immédiat de leurs chevaux. Dès que la maladie sera reconnue chez le cheval, on l'isolera loin de la jumenterie; l'indigène, surtout le Peuhl, sait assez bien reconnaître une trypanosomiase à ses débuts ; mais, ignorant, il ne prend aucune mesure contre l'animal malade. Ce qui lui échappe surtout, c'est que des animaux de race différente puissent être atteints de la même maladie. Généralement, dans une épizootie de Souma chez les bœufs, il ne craint pas pour son cheval et le laisse au voisinage du troupeau malade; évidemment cet animal contracte la maladie. Quoique la Baléri naturelle n'ait pas encore été observée chez les Bovidés, aussi bien pour cette maladie que pour la Souma, il faudra prescrire à l'éleveur d'isoler un troupeau dès que s'affirme une mortalité insolite.

Aux troupeaux en déplacement d'une région dans une autre, traversant les zones d'élevage de la bouche de la

Volta et des provinces arrosées par le Bani et ses affluents, on doit imposer des gîtes d'étapes dans des régions saines, à 3 kilomètres environ des troupeaux sédentaires. Si ces troupeaux sont malades, ceux de passage ne se contamineront pas, et si c'est le troupeau étranger qui est atteint d'une trypanosomiase quelconque, Baléri ou Souma, c'est l'élevage local qui sera épargné.

D'autre part, il y aurait lieu d'étudier une ou plusieurs voies d'exportation sur la Haute-Côte d'Ivoire et la Gold-Coast, réduisant au minimum tout contact avec les fleuves contaminés. La voie empruntée par les indigènes venant du Macina et se rendant à Bobo-Dioulasso nous semble bonne; elle traverse le Bani près de San où il y a très peu de tsétsés, et la Volta noire à Kounougou où les mouches sont assez rares, grâce au défrichement des rives sur une centaine de mètres. D'après enquête faite auprès des chefs peuhls, il paraît que la mortalité des troupeaux en déplacement ne dépasse pas 5 0/0. « Mais, disent-ils, si nos animaux arrivent dans de bonnes conditions sur les marchés importants du cercle de Bobo-Dioulasso ou de la Haute-Côte d'Ivoire, ils y deviennent rapidement malades; aussi nous empressons-nous de les vendre, redoutant l'épizootie qui fait beaucoup de victimes. » Nous ne croyons pas que le virus soit convoyé par le troupeau; la mortalité aurait tout aussi bien lieu en cours de route. Comme les trypanosomiases ont en général bien des points communs, il ne nous paraît point déplacé de citer ici le fait suivant relatif à la Souma, qui corrobore notre façon de voir.

Il s'agissait de pourvoir facilement de génisses le centre vaccinogène de Bamako qui recrute difficilement sur place; nous nous adressons aux éleveurs du Sahel qui ont de nombreux troupeaux de zébus. Un troupeau de 10 génisses de cette race est acheté dans la région de Tombouctou et parvient à Bamako dans d'excellentes conditions, voyageant en vapeur jusqu'à Koulikoro.

Connaissant la grande sensibilité de ces Bovidés à la Souma, nous les surveillons à ce sujet et examinons leur sang une fois par semaine; ce n'est que 40 jours après leur arrivée que nous constatons le premier cas, rapidement mortel; en 1 mois, nous en perdons 6; le fait se passait en février et mars, c'est-à-dire en pleine saison sèche; les 4 génisses qui ont échappé à la contamination, contamination contre laquelle nous n'avons point lutté, pour bien prouver qu'en toute saison Bamako et ses environs forment un foyer enzootique de Souma, ont été vendues aux enchères, ainsi qu'il nous

est prescrit de le faire, après récolte du vaccin. Nous n'avons trouvé acquéreur que chez les Maures qui rapidement les renvoient dans le Sahel; le Bambara sait très bien que le zèbu se peut vivre à Bamako. Il est bien certain que les génisses de ce troupeau se sont contaminées sur place et n'ont point apporté le germe avec elle. On s'expliquerait difficilement la latence d'un germe qui, après un mois, se réveillerait pour devenir virulent au point de tuer en 15 jours des animaux très bien nourris.

Il y a donc lieu de penser que les troupeaux des Peuhls de la boucle du Niger, indemnes de Baléri et de Souma, doivent trouver dans la province de Bobo-Dioulasso, et surtout en Côte d'Ivoire et en Gold-Coast, des centres endémiques de trypanosomiase qui les décime dans les mois qui suivent leur arrivée.

Nous admettons volontiers qu'exceptionnellement le troupeau puisse être contaminé au point de départ ou en cours de route; dans ces cas, l'administration peut facilement s'en rendre compte et prendre les mesures nécessaires contre l'épizootie en marche. Le troupeau paie patente et, sur une feuille délivrée au chef berger, sont mentionnés le nombre d'animaux et leur espèce; il est donc tout naturel, attendu que l'indigène ne remplace jamais les morts en cours de route, de transformer ce papier en carnet sanitaire et de suspecter une épizootie si la mortalité atteint 20 0/0 de l'effectif après une marche normale de 10 kilomètres par jour.

Des considérations et faits précédents, il résulte qu'il est nécessaire de déterminer les zones épizootiques de Baléri et de Souma du sud de la colonie, pour permettre aux troupeaux du nord et du centre des territoires de la boucle du Niger de gagner la Gold-Coast et la Haute-Côte d'Ivoire sans rencontrer sur leur route des foyers permanents et dangereux de trypanosomiase. En outre, si nous admettons le problème résolu, il incombera à ces deux possessions française et anglaise, qui ont tout intérêt à favoriser l'importation de chevaux et bœufs en excellent état, de se préoccuper de l'état sanitaire de leurs grands marchés, afin que l'éleveur peuhl ou bambara qui, à grand'peine, aura conduit au but ses troupeaux indemnes de Baléri, ne les voie pas, au terme du voyage, décimés rapidement par d'autres trypanosomiases, telles que la Souma qui peut exister et être endémique dans des régions sans tsétsés.

b) La destruction de *l'agent de transmission*, la *Glossina palpalis*, semble difficile; cependant on pourrait mettre en pratique un fait d'observation intéressant à signaler ici. Il ressort en effet des constatations faites au cours de notre voyage en saison des pluies sur les deux grands fleuves qui arrosent les territoires de la boucle du Niger, la Volta noire et le Bani, qu'on ne trouve les glossines que sur les cours d'eau aux rives encombrées d'une forte végétation et de broussailles très touffues; dès que la rive est nue, on ne trouve plus de tsétsés; et un débroussaillement sur deux cents mètres environ peut suffire pour permettre aux troupeaux de passer sans danger un fleuve aussi redoutable que la Haute-Volta noire. Le débroussaillement complet est un travail de géant, et il serait peu pratique de le préconiser, surtout dans des régions aussi mal peuplées que les abords de la Haute-Volta, du Banifing et du Baoulé. Le défrichement partiel est possible et peut, à notre avis, rendre des services à l'élevage local. Quand la nature s'est chargée de ce défrichement, comme par exemple à Guindo, gros village bambara de plus de 500 habitants, sur la rive gauche du Bani, entre Garo et le Banifing, on trouve des troupeaux de bœufs, et quelques chevaux; les mouches n'existent pas. En somme, aussi bien sur les affluents du Haut-Niger, visités en février dernier, tels que le Tinkisso, le Sankarani, le Fay, que sur le Bani et la Haute-Volta noire, il suffit qu'à une rive excessivement boisée succède une rive nue pour constater la disparition des glossines.

Je ne saurais terminer ce travail sans remercier mon maître, M. Mesnil, de sa bienveillance habituelle et des précieux conseils qu'il ne m'a point épargnés au cours de mes recherches sur cette trypanosomiase.

Une Conception générale des anticorps et de leurs effets.

1° Les anticorps des toxines solubles.

PAR MM. M. NICOLLE ET E. POZERSKI

Nous commencerons par reproduire *in extenso* la communication de l'un de nous à la Société de Biologie (séance du 13 juillet dernier), communication qui résume, d'une façon très succincte, les idées développées dans ce travail et les deux suivants.

Il ne sera question, au cours de la présente étude, que des *anticorps artificiels* des toxines.

I. Les *anticorps artificiels* peuvent être divisés en *trois groupes*, suivant la nature des « corps » ou antigènes correspondants :

a) Les *anticorps des cellules* animales, végétales ou microbiennes, comprenant deux types bien connus et diamétralement opposés dans leur action : les *cytocoagulines* (agglutinines) et les *cytolysines*. Les cytocoagulines, agents de condensation, modifient l'état physique et chimique de tous les éléments sensibles, morts ou vivants, et paralysent, durant leur vie, ceux de ces éléments qui sont doués de mobilité. Ils ne déterminent le phénomène de l'agglomération qu'*in vitro* (ou, *in vivo*, dans des conditions rares et pratiquement équivalentes). Les cytolysines, agents de décondensation, attaquent les cellules d'une façon plus ou moins brutale et en libèrent des poisons auxquels on peut donner le nom d' « endotoxines vraies ». L'intoxication résultante n'est toutefois réalisable que si la cytolyse s'accomplit assez vite et intéresse, bien entendu, une masse suffisante de substance cellulaire. Cette cytolyse se manifeste *in vitro*, dans certains cas, à un degré plus ou moins marqué ;

b) Les *anticorps des matières albuminoïdes* animales, végétales ou microbiennes, qui jouissent du pouvoir antigène, comprenant les *albuminocoagulines* (précipitines) et les *albuminolysines* (conception nouvelle). Les albuminocoagulines condensent les substances sensibles, mais ne les précipitent qu'*in vitro*. Les albuminolysines attaquent les matières albuminoïdes et en libèrent, ici encore, des *endotoxines vraies*. On peut considérer comme « endotoxines brutes » les portions de la substance des cellules et les consti-

1. Je ne saurais trop remercier ici mon ami Delezenne qui a bien voulu se priver, en ma faveur, *pendant trois mois*, de l'utile — et agréable — collaboration du Dr Pozerski. Sans cette collaboration, il m'eût été impossible, seul, de multiplier les expériences de fixation du complément (Bordet-Gengou), autant qu'il le fallait, pour ne conserver *aucun doute* sur la valeur des résultats obtenus.
M. N.

tuants des extraits cellulaires et des humeurs qui engendrent les endotoxines vraies lors de la cytolyse et de l'albuminolyse. Cette dernière ne s'accompagne, *in vitro*, d'aucune modification discernable;

c) Les *anticorps des* « toxines solubles » animales, végétales ou microbiennes, comprenant les *toxinocoagulines* (antitoxines) et les *toxinolysines* (conception nouvelle). Les toxinocoagulines condensent les toxines (brutes) sensibles, sans que cette condensation se manifeste à l'œil nu, au microscope, ou à l'ultramicroscope. Les toxinolysines attaquent ces mêmes toxines et en libèrent les *toxines vraies*, sans qu'il y ait non plus de changement visible *in vitro*. On peut considérer comme *toxines brutes* les constituants des extraits cellulaires ou des filtrats microbiens qui engendrent les toxines vraies lors de la toxinolyse. Inutile de rappeler que, bien souvent, on introduit à la fois, dans l'organisme animal, des endotoxines brutes et des toxines brutes, sous des formes concrètes d'ailleurs très variées.

II. Les anticorps des cellules ne représentent, en somme, que les anticorps des « albuminoïdes figurés » et ne diffèrent point, essentiellement, de ceux des albuminoïdes non figurés. Les anticorps des toxines, bien que se rattachant, eux aussi, aux anticorps des albuminoïdes, s'en écartent assez, et par leurs caractères propres et par ceux de leurs antigènes, pour mériter une place à part.

III. L'organisme animal, auquel on administre une cellule, un albuminoïde ou une toxine (étrangers), réagit par le moyen des deux anticorps correspondants, coaguline et lysine. Dans la majorité des cas, tout au moins, *ces deux anticorps sont formés parallèlement*, bien que leurs quantités respectives demeurent habituellement variables, *à un moment donné et en un point* (ou un système) *donné* de l'économie. C'est cette abondance, variable *dans le temps et dans le lieu* — et subordonnée à la qualité de l'animal et à celle de l'antigène d'une part, à la qualité [1] et à la voie d'introduction de l'antigène de l'autre — que traduisent, objectivement, les phénomènes classiques de l'*immunité* et de l'*hypersensibilité*. Phénomènes diamétralement opposés en leurs résultats, mais capables de se succéder, voire de se remplacer chez un même sujet, suivant l'*époque* et le *mode* choisis pour la réadministration (ou les réadministrations) de l'antigène.

IV. *A un point de vue théorique et absolu*, on pourrait considérer les coagulines comme représentant les « *bons* » *anticorps* et les lysines comme représentant les « *mauvais* ». En effet (dans le cas où elles prédominent), les coagulines, en condensant rapidement les antigènes, fournissent à l'organisme le laps nécessaire pour les attaquer peu à peu, sans que la quantité de poison, libérée par unité de temps, puisse déterminer des accidents toxiques (ou tout au moins mortels). Les lysines, au contraire, nous apparaissent (lors de leur prédominance) comme les agents d'un empoisonnement obligé et parfois foudroyant, car l'économie n'offre, vis-à-vis des endotoxines vraies et des toxines vraies, que des moyens de défense très limités, tels que ceux qu'elle oppose, par exemple, aux alcaloïdes. *A un point de vue pratique et relatif*, il faut s'empresser de reconnaître que les lysines

1. Lire : quantité (erreur typographique dans le texte des *C. R. de la Soc. de Biol.*).

(au cas où elles prédominent) rendent journellement des services dans la destruction rapide des antigènes dont la masse et la teneur en poison vrai demeurent limitées, avant tout dans la destruction des unités d' « antigènes vivants ».

V. Il faudra donc, connaissant le double mode réactionnel de l'économie qui vient d'être exposé, nous efforcer de provoquer, selon les cas, la formation prépondérante de coagulines ou de lysines. Il faudra également, là où la lutte par les méthodes bactériologiques semble devoir rester infructueuse, nous adresser à la *thérapeutique chimique*, si riche de promesses ; on lui demandera, *tout d'abord*, les moyens de neutraliser les endotoxines vraies et les toxines vraies.

VI. Nous sommes conduits, *par analogie*, à considérer les phénomènes de *résistance* et de *sensibilité normales* comme la « réduction » des phénomènes d'hyperrésistance et d'hypersensibilité (artificielles) ; les premiers se trouveraient donc sous la dépendance étroite (bien que non exclusive) de *coagulines* et de *lysines normales*.

CONCEPTION GÉNÉRALE DES ANTICORPS ARTIFICIELS CONNUS JUSQU'ICI (LES ANTITOXINES EXCEPTÉES).

Les anticorps artificiels décrits jusqu'ici sont représentés par : les deux groupes opposés d'anticorps cellulaires : cytoagglutinines et cytolysines — un groupe d'anticorps des albuminoïdes : précipitines — et un groupe d'anticorps des « toxines solubles » : antitoxines. Les précipitines constituent, évidemment, les coagulines artificielles des albuminoïdes (comme les agglutinines, les coagulines artificielles des cellules) et, à ces anticorps de condensation, s'opposent les « sensibilisatrices de Gengou », que personne n'a jamais eu l'idée de prendre pour ce qu'elles sont, c'est-à-dire pour les « albuminolysines ». Quant aux antitoxines, nous montrerons qu'elles doivent être considérées comme les coagulines des antigènes correspondants et qu'à ces coagulines s'opposent des lysines non moins spécifiques. — Mais, d'abord, résumons, *avec nos idées propres*, ce que l'on sait aujourd'hui touchant les *caractères généraux* des 3 *anticorps bien connus*, *à action visible* in vitro : *cytoagglutinines*, *cytolysines* et *précipitines*.

La nature de ces anticorps demeure, comme celle des antigènes homologues, absolument impénétrable à nos moyens d'étude présents ; toutefois, l'allure de leurs réactions mutuelles impose cette conviction qu'il s'agit de substances colloïdales, dans les deux cas. Les anticorps existent sous des concentra-

tions très variables, au sein des humeurs, chez les sujets dont l'économie est entrée en conflit avec les antigènes ; parfois, il devient indispensable de recourir à des méthodes d'une extrême délicatesse pour démontrer leur présence, parfois même on échoue (mais il ne faut pas oublier que les procédés de recherches actuels pourront être rendus beaucoup plus sensibles). Les anticorps passent assez fréquemment dans certaines secrétions (lait, par exemple) ; la transmission au fœtus n'est pas rare, elle aussi. Ajoutons que les anticorps résistent à 55° et qu'ils doivent être tenus pour spécifiques (au moins pratiquement).

On ne met les anticorps en évidence que grâce à leur action sur les antigènes, soit *in vitro*, soit *in vivo*.

1° *In vitro*, il a été constaté, tout d'abord, que les anticorps jouissent du pouvoir de *se fixer* sur les antigènes correspondants (Ehrlich). Quoiqu'on ait pu en dire, cette fixation ne revêt pas le caractère d'un phénomène chimique (ainsi que Bordet l'a noté le premier) — et cela, pour les trois raisons suivantes :

1. Selon que l'on ajoute l'anticorps à l'antigène en une ou plusieurs fois, on obtient des résultats (équilibres) différents — Bordet, Danysz, von Dungern, etc...

2. Les phénomènes, engendrés par l'interaction des anticorps et des antigènes, ne manifestent qu'une réversibilité transitoire et de durée ordinairement brève.

3. Les constantes d'équilibre des mélanges « anticorps + antigène » varient avec divers facteurs et, notamment, avec le temps.

Il s'agit donc de phénomènes analogues à ceux que l'on observe lors des interactions de colloïdes, phénomènes auxquels on ne saurait appliquer les lois établies pour les systèmes homogènes (Nernst). Ainsi s'explique, entre autres résultats expérimentaux bien connus, l'existence d'un *optimum*, observé dans toutes les actions d'anticorps.

La *théorie physique*, adoptée par nous, ne saurait rendre compte, a-t-on dit, de la spécificité qui domine l'histoire des anticorps, tandis que la *théorie chimique* l'explique d'une façon satisfaisante. Nous répondrons à cela : que la théorie chimique permet simplement de concevoir la multiplicité des anticorps qui s'opposent aux antigènes, tandis que la théorie physique (telle que nous la comprenons), tout en se refusant à considérer

les phénomènes de fixation comme des réactions chimiques en proportions définies, n'en reconnaît pas moins l'intime corrélation qui existe entre les propriétés physiques des corps et leur constitution chimique. La seconde théorie offre donc le double avantage d'être plus compréhensive que la première et bien plus conforme à l'ensemble des faits connus.

Une fois fixés sur les antigènes, les anticorps y exercent leur action propre, les lysines avec le concours obligé des compléments (Bordet), les coagulines sans l'aide de cette « seconde substance », à laquelle elles demeurent totalement indifférentes. Les coagulines ne déterminent d'effets *visibles* que pour des proportions convenables du système « anticorps + antigène » et en milieu suffisamment salin (Bordet). Les lysines (subordonnées, elles aussi, pour leurs effets, à des conditions de mélange) attaquent, lorsqu'elles ont été *activées* par les compléments (telle est, du moins, notre façon de concevoir le rôle de ceux-ci), les antigènes correspondants et en libèrent, avec une vitesse variable, des *substances toxiques* dont la quantité demeure ordinairement très faible *in vitro* — car ces substances n'ont pu être décelées que dans des cas exceptionnels (il y a donc, ici encore, à perfectionner nos méthodes de recherche). Nous admettons qu'au phénomène initial de la fixation succèdent des changements physiques, puis chimiques des antigènes, toujours peu profonds *in vitro*, mais d'une bien autre intensité *in vivo*.

2° *In vivo*, les coagulines ne déterminent que rarement leurs effets dits « caractéristiques » et toujours, alors, dans des conditions analogues à celles qui se trouvent réalisées *in vitro*. Les lysines, au contraire, provoquent la disparition *tangible* des antigènes et, à une disparition rapide, correspondent *ici* des phénomènes toxiques plus ou moins marqués, parfois foudroyants ; c'est qu'*in vivo* les lysines « disponibles » peuvent se renouveler une fois consommées. Il en va de même pour les coagulines et l'on est fondé à admettre que leur *action continue, au sein de l'économie*, amène, dans nombre de cas, un haut degré de condensation des antigènes et une *mort par coagulation* chez les antigènes vivants (microbes).

Comme on le verra ultérieurement, les phénomènes d'*immunité* et d'*hypersensibilité* ne font que traduire à nos yeux l'abondance, variable selon les cas, des coagulines et des lysines *in vivo*.

Nous admettons (par analogie avec les procès digestifs — voir plus loin) que les actions d'anticorps comportent toujours deux phases : condensation, puis dissolution des antigènes. Il y a toujours, en effet, soit *in vitro* (sérum), soit *in vivo* (humeurs ou cellules), présence simultanée de coagulines et de lysines (lorsque le « traitement » n'engendre qu'un seul anticorps artificiel, celui-ci est « complété » par l'anticorps normal de nature opposée). *In vitro*, la condensation initiale ainsi que la dissolution terminale peuvent être infiniment réduites ; mais, *in vivo*, elles atteignent constamment un degré marqué puisque, disions-nous tout à l'heure, les coagulines et les lysines se renouvellent une fois consommées (la dissolution notamment finit, dans la régle, par devenir totale, fût-ce après un long temps).

TOXINOCOAGULINES ET TOXINOLYSINES

Il nous faut établir, maintenant, que les antitoxines doivent être considérées comme les coagulines des « toxines solubles » et qu'à ces coagulines s'oppose un groupe d'anticorps inconnu jusqu'ici, les toxinolysines.

I

In vitro, les antitoxines ne manifestent leur action par aucun changement *visible* des liquides en présence. Il faut donc recourir à l'expérience chez l'animal pour apprécier cette action. Or, l'expérience conduit à admettre que les antitoxines se *fixent* sur les toxines homologues, comme les autres anticorps sur les antigènes correspondants, sans obéir aux lois chimiques. Nous retrouvons ici, caractéristiques, l'effet Bordet — Danysz-Dungern — la réversibilité transitoire et habituellement peu durable des phénomènes — et la variation des constantes d'équilibre des mélanges avec le temps. Mais, une fois fixées sur les toxines, quelles modifications les antitoxines font-elles éprouver à celles-ci ? Ce ne peut-être qu'une coagulation, *puisque les antitoxines*, à la manière des agglutinines et des précipitines, *agissent sans le secours des compléments*, auxquels elles demeurent totalement indifférentes.

Nous sommes donc convaincus que les antitoxines coagulent les toxines, bien que le fait demeure indémontrable par nos méthodes actuelles d'investigation. Indémontrable? Il existe cependant des cas *où l'on voit quelque chose.* Ainsi, l'antiricine (Jacoby) l'antiabrine (Haussmann) et l'anticrotine (Bashford) déterminent, dans les « solutions » des toxines homologues, l'apparition d'un coagulum tout à fait typique. Le phénomène suit les lois qui régissent les actions d'anticorps en général ; aussi comporte-t-il un *optimum.* pour lequel le précipité offre sa plus grande abondance. Ce précipité optimum recèle, « unis » l'un à l'autre, tout l'antigène et tout l'anticorps. Jacoby, dont les études ont porté sur la ricine et l'antiricine, estime qu'on ne saurait attribuer exclusivement la production du coagulum à une précipitation de la toxine, étant données les dimensions, certainement très faibles, des particules qui forment celle-ci. Aussi admet-il, durant la coagulation, un entraînement parallèle de certains constituants du sérum antitoxique. Il serait plus logique, selon nous, d'invoquer alors une action de précipitine, due à la présence d'antigènes albuminoïdes dans les solutions de ricine. Rien ne prouve, cependant, rigoureusement que cette toxine végétale soit incapable de fournir le précipité observé; d'autant que, dans les expériences de Jacoby, il s'agissait d'un poison purifié par digestion artificielle et que, même des restes d'albumoses ou de peptones n'auraient pu engendrer le coagulum. Les expériences entreprises par l'un de nous avec le Dr Abt ont montré, en effet, que l'on n'obtient jamais de précipitines quand on traite les animaux par les peptones Witte, Chapotaut ou Defresne. Enfin, il ne faut pas oublier que les antitoxines diphtérique, tétanique, botulique... ne coagulent point les poisons correspondants, bien que les animaux, fournisseurs de sérum, aient reçu des produits moins purs encore que la ricine de Jacoby et bien que l'entraînement de constituants sériques, lors du mélange *in vitro* des anticorps et des antigènes, ait autant de raisons de se produire que dans le cas des toxines végétales. On a donc l'impression que celles-ci sont réellement coagulées par leurs anticorps — avec concomitance *possible* d'une action de précipitines.

Nous admettons, en résumé, que les antitoxines se fixent *in vitro* sur les toxines correspondantes (même modifiées — Ehrlich)

et amènent ensuite leur coagulation. A celle-ci succèdent des modifications qui ne sont jamais aussi marquées qu'*in vivo*. *In vivo*, il y a fixation, coagulation, puis destruction lente (en vertu d'un acte lytique, comme nous l'indiquerons plus loin). La fixation au sein de l'organisme est démontrée par la baisse immédiate du pouvoir antitoxique, chez les animaux immunisés qui reçoivent une nouvelle injection de poison et cette baisse, ainsi qu'il résulte des expériences bien connues de Salomonsen et Madsen, demeure absolument hors de proportion avec la quantité de toxine introduite (ce qui suffirait à exclure, une fois pour toutes, la possibilité d'une réaction chimique en proportions définies).

Nos idées, touchant le rôle des antitoxines, permettent de comprendre d'une façon simple et claire les faits, d'allure un peu mystérieuse, observés par Ehrlich et ses élèves dans leurs recherches sur le sérum antidiphtérique. C'est ainsi que l'écart, en apparence paradoxal, observé entre les « valeurs L_0 et $L+$ » — non moins que l'allure discontinue de la « neutralisation » dans les expériences de « saturation partielle » s'expliquent aisément par les lois qui régissent la coagulation des colloïdes. Celle-ci « n'est pas continue et il y a des intervalles de concentration dans lesquels on n'observe pour ainsi dire aucune précipitation » (Cotton et Mouton — à propos de la coagulation des albuminoïdes par les sels des métaux alcalins). De même, pour l'histoire des mélanges « neutres », dont Cotton et Mouton fournissent une conception parfaitement nette. « La possibilité de dissocier plus ou moins complètement un mélange « neutre » de toxine et d'antitoxine lorsqu'il vient d'être préparé, tandis qu'au bout d'un certain temps il est « consolidé », fait étudié par l'École d'Ehrlich, rappelle aussitôt la possibilité de « redissoudre » par certains procédés le gel formé par la précipitation d'un colloïde peu de temps après sa préparation, alors que le même gel résiste ensuite aux mêmes actions ». N'oublions pas d'autre part que, pour apprécier l'action des antitoxines sur les toxines, on est toujours obligé de recourir à l'expérimentation chez l'animal. Or, un même mélange « neutre », injecté à des sujets d'espèce différente — ou à des sujets de même espèce, mais d'âge ou de condition (physiologique ou pathologique) différente — ou, enfin, à des individus

de même espèce et aussi semblables que possible, mais par une voie différente — peut déterminer toute une gamme d'effets variés, selon la *vitesse de décoagulation* manifestée par chacun des organismes auxquels on s'adresse. Et la « neutralité », terme extrême, ne fait que traduire à nos yeux une décoagulation excessivement lente. Nous voyons que point n'est besoin d'imaginer d'hypothétiques toxones, pour rendre compte des apparences observées dans les interactions des toxines et des antitoxines. Point n'est besoin, non plus, de faire intervenir la fraction de toxine supposée libre par Arrhenius et Madsen, comme le prouvent les expériences, si intéressantes, de vaccination du cobaye contre le poison du charbon symptomatique, réalisées par Grassberger et Schattenfroh à l'aide de certains mélanges de sérum et de toxine charbonneux.

Les antitoxines agissent donc sur les poisons homologues dans le même sens que le vieillissement, la chaleur et divers réactifs chimiques ; d'où la possibilité d'immuniser (voire d'hyperimmuniser) les animaux avec des mélanges de moins en moins coagulés par l'un quelconque de ces facteurs.

II

Nous arrivons, maintenant, à la question des toxinolysines. Voici, par analogie avec les cytolysines bien connues, comment on peut se représenter *a priori* cette nouvelle espèce d'anticorps. *In vitro*, les toxinolysines se fixent sur les toxines brutes correspondantes (même altérées) et, grâce au pouvoir activant des compléments qu'on leur associe, les « dissolvent » et en libèrent des poisons vrais (dont la quantité doit être très faible dans ces conditions). *In vivo*, elles se fixent sur les mêmes antigènes et les attaquent plus énergiquement. L'intoxication résultante se trouve liée, quant à son intensité, d'une part à la concentration de l'anticorps au sein de l'organisme, d'autre part à la masse et au degré d'intégrité de la toxine ; une toxine coagulée est donc susceptible de *consommer* beaucoup de lysine sans dommage pour l'économie où s'opère sa destruction. — Rappelons ici, que, pour nous, l'action lytique est toujours précédée d'une coagulation.

Telle est l'idée que nous nous faisons de ces nouveaux anti-

corps. Jusqu'à quel point l'expérience la confirme-t-elle? La fixation *spécifique* des toxinolysines sur les toxines (même bouillies) se démontre sans difficulté, à l'aide de la méthode de Bordet-Gengou, comme nous allons le voir tout à l'heure. Il n'y a pas lieu de s'étonner si, au cours de la lyse, la quantité de poison libéré demeure inappréciable *in vitro;* simple affaire de concentration des anticorps et de « solubilité » des antigènes. (Richet, auquel on doit la première synthèse des phénomènes d'hypersensibilité — d'*anaphylaxie*, comme il les a dénommés — a vu toutefois que le sérum des chiens, hypers. vis-à-vis de la mytilocongestine, *semble* exagérer, par mélange, l'activité de celle-ci). Ajoutons que l'étude de l'hypersensibilité vis-à-vis des toxines solubles vérifiera intégralement ce que nous avions prévu, touchant le rôle des toxinolysines *in vivo*.

Avant de rapporter nos expériences de fixation du complément, il est indispensable d'établir la légitimité des conclusions que l'on peut tirer du procédé Bordet-Gengou.

C'est en 1902, que Gengou découvrit, dans le sérum des animaux traités par divers albuminoïdes, des « sensibilisatrices » spécifiques, faciles à mettre en évidence par la fixation (ou déviation) du complément. Comme nous l'avons dit au début de ce travail, ni Gengou ni aucun de ceux qui constatèrent, à sa suite, la présence de « sensibilisatrices » analogues, n'eut l'idée, pourtant fort simple, qu'il s'agissait d'albuminolysines; sans quoi cette idée aurait conduit fatalement à celle des toxinolysines et l'étude des anticorps ne serait pas restée si longtemps lacunaire.

En 1905, Moreschi contesta l'existence des « sensibilisatrices » de Gengou et attribua la déviation du complément à des précipités concomitants. D'après Moreschi, en effet, les sérums qui récèlent les anticorps de Gengou contiendraient toujours également des précipitines. Gay arriva, de son côté, à une conception identique. Peu importe d'ailleurs, pour l'un et l'autre auteur, que le précipité soit visible ou non, à l'état naissant ou déjà constitué. Et, révisant l'ensemble des notions basées sur la réaction de Bordet-Gengou, Moreschi et Gay conclurent de leur enquête expérimentale que la réalité des anticompléments, des antiautocompléments, de certains antiambocepteurs (tout au moins) n'était pas démontrable; de même, pour le phéno-

mène de Neisser et Wechsberg... Aucun doute, quant à la valeur de leurs conclusions. Mais la cause première, à laquelle il faut rapporter la déviation du complément dans toutes ces conditions, demeure bel et bien, selon nous, la lysine, ainsi que l'avait affirmé Gengou, et non point le précipité (c'est-à-dire, indirectement, la précipitine). Nous sommes donc tout à fait d'accord avec Wassermann et Bruck, Neisser et Sachs, Browning et Sachs, etc... Ces auteurs ont fait remarquer que la fixation s'observe très souvent en l'absence de tout précipité visible (nous l'avons constaté dans la majorité de nos expériences, comme on le verra); l'argument n'est pas suffisant en rigueur. Mais que peut-on objecter à ce fait que, dans maintes circonstances, aucun parallélisme ne saurait être établi entre l'intensité des deux phénomènes : déviation et précipitation — et à cet autre, que des extraits bactériens, jouissant du double pouvoir de dévier et d'être précipités, peuvent perdre par veillissement la seconde de ces propriétés, en conservant intégralement la première? Wassermann et Bruck, qui ont établi ce dernier point (Liefmann est arrivé à des résultats analogues, en chauffant les antigènes), affirment que Moreschi lui-même s'est rendu à leurs raisons. Nous ajouterons qu'on ne voit pas bien pourquoi les compléments seraient si facilement fixés par des précipités, souvent invisibles, alors que des quantités notables de poudre de peau, de noir animal, de terre d'infusoires..... ne les entraînent point (Ehrlich et Sachs).

Le principe de la méthode de Bordet-Gengou consiste donc, en fin de compte, à faire *consommer* une quantité bien calculée de complément, au cours d'une *première lyse* dont la nature est essentiellement variable (cyto-albumino — ou toxinolyse), afin de rendre impossible la réalisation d'une *seconde lyse* dont la nature ne varie point (on choisit, constamment, l'hémolyse à cause de la sensibilité de ses indications). Qu'il s'agisse d'un antigène liquide et le demeurant au cours de la réaction, ou d'un antigène soit solide d'emblée soit appelé à le devenir (précipitation), la lysine ira toujours s'y fixer et le complément disparaîtra alors en jouant son rôle d'activateur.

Ceci posé, nous allons faire connaître les résultats de nos recherches. De même que, pour obtenir des antitoxines, on doit s'adresser, de toute néces-

sité, aux animaux immunisés, de même c'est à des sujets hypersensibles que nous avons eu recours pour démontrer l'existence des toxinolysines. Nous ne parlerons point des expériences effectuées durant la période de tâtonnement, où il nous a fallu acquérir la pratique du procédé Bordet-Gengou. Les recherches, sur lesquelles sont basées nos conclusions, se résument ainsi : 2 séries de 4 cobayes, ayant reçu, chaque jour, 1/50 de la dose mortelle (en 2 jours 1/2) de toxine diphtérique dans les muscles; une série de 6 cobayes, ayant reçu, chaque jour, 1/50 de la dose mortelle (en 2 jours 1/2) de toxine tétanique dans les muscles ; une seconde série (4 animaux), traitée quotidiennement par l'injection intramusculaire de 1/100 de la même dose ; une troisième série (4 animaux), soumise chaque jour à l'injection intrapéritonéale de 1/100 de la dose mortelle. Nos deux solutions de toxines (diphtérique et tétanique), *rigoureusement comparables à tous égards*, avaient été préparées en portant un excès des poisons secs correspondants dans l'eau glycérinée (àà) et en laissant le liquide se clrifier à la longue L'une et l'autre, par un heureux hasard, tuent le cobaye de 500-600 grammes en 2 jours 1/2 (très rarement en 3 jours) ; leur activité n'a point varié depuis des mois. Elles sont conservées dans la glacière depuis leur préparation. Ajoutons que les animaux, soumis aux injections intramusculaires quotidiennes, reçoivent celles-ci, tour à tour, dans les 4 membres, en suivant toujours le même ordre (patte postérieure gauche, patte postérieure droite, patte antérieure gauche, patte antérieure droite). Le sang est prélevé, sans difficulté ni danger aucuns, par la ponction cardiaque (méthode de Ch. Nicolle).

Voici comment, avec le sérum recueilli, nous opérons la recherche de la déviation. On mélange, dans un tube, ce sérum (chauffé 1/2 heure à 55°), sous le volume *constant* de $0^{cc},3$, avec 1 goutte de la solution de toxine (volume *constant*, également) et $0^{cc},02$ de complément (sérum de *cobaye*) frais, ou $0^{cc},05$ de complément ancien. Nous n'avons pas tardé à reconnaître qu'il est préférable de s'adresser aux compléments anciens (9-14 jours — des sérums plus vieux n'ont pas été expérimentés). Les compléments frais perdent, en effet, *très* rapidement la majeure partie de leur activité et la vitesse d'altération varie beaucoup d'un complément à un autre, d'où un trouble perpétuel dans les recherches. Tandis que, si l'on attend plusieurs jours, au fléchissement brusque du début fait suite une diminution de plus en plus lente, peu sensible conséquemment d'un jour à l'autre (tout au moins dans les limites indiquées). Il y a avantage à faire une provision de complément et, au cas où nous continuerions nos recherches, nous partirions de la plus grande quantité initiale possible (ce qui permettrait, d'autre part, de savoir pendant combien de temps les sérums peuvent demeurer utilisables). Nous aurions encore beaucoup à dire, touchant l'histoire des compléments et celle de la réaction de Bordet-Gengou, mais cela nous entraînerait hors de notre sujet.

Le mélange sérum toxinolytique + toxine + complément étant effectué, on bouche le tube, on agite et on porte une heure à 37°. On prépare, de même, des témoins, dont deux sont rigoureusement indispensables : sérum normal (chauffé 1/2 heure à 55°) + toxine + complément — sérum toxino-

lytique + toxine hétérologue (tétanique avec le sérum diphtérolytique et *vice versa*) + complément. Après une heure d'étuve, on examine les tubes, *dont le liquide n'a jamais montré de précipité* et on ajoute *constamment*, dans chacun d'eux, 0cc,1 d' « ambocepteur » hémolytique et 1 c. c. d'émulsion globulaire. On porte, de nouveau, à 37° et, lorsque les témoins ont commencé à hémolyser nettement, on suit le décours de l'expérience à la température ordinaire, afin de noter toutes les nuances possibles du phénomène. Nous avons employé, comme « ambocepteur » hémolytique (sur les conseils du Dr Delezenne), le sérum de lapins traités par les hématies du bœuf (sérum chauffé, naturellement, 1/2 heure à 55°). Toutes les déviations, dont nous allons rapporter l'histoire, ont été faites avec la même provision de sérum (mélange). Pour obtenir l'émulsion globulaire, on lave à 3 reprises les hématies, on rétablit le volume initial du sang défibriné et, lors de la recherche, on étend au 20e le volume nécessaire d'émulsion mère.

Résumons maintenant nos 5 séries d'expériences.

1re *Expérience avec la toxine diphtérique.* 4 forts cobayes (630 à 670 grammes) ont reçu quotidiennement, par la voie intramusculaire, 1/50 de la dose mortelle (en 2 jours 1/2) de toxine (c'est-à-dire 1/50 de 1/50 de cmc). Deux d'entre eux (T et R) ont maigri de plus en plus et sont morts, respectivement, après 27 et 40 injections (T 3 jours 1/2 après la 27e; R 11 jours 1/2 après la 40e). Les deux autres sujets (V et VR) n'ont perdu que peu de leur poids et se sont montrés capables de supporter, sans dommage, l'injection intracérébrale de 1/50 de cmc. de toxine, qui tue le témoin en deux jours au plus (V a été éprouvé après 33 injections; VR après 40). Ceci nous montre que la dose de 1/50 de cmc, administrée quotidiennement, permet d'obtenir soit l'immunité soit l'hypersensibilité. Elle détermine la formation simultanée d'antitoxine et de toxinolysine, mais en proportions variables selon l' « idiosyncrasie » des sujets; on ne saurait trouver une meilleure limite.

Le tableau suivant réunit les expériences entreprises, par le procédé Bordet-Gengou, avec le sérum de nos 4 cobayes.

Sérums étudiés (chauffés 1/2 heure à 55°)	Complément	Toxine diphtérique	Toxine tétanique	Ambocepteur hémolytique	Hématies (émulsion au 20e)	Eau salée	Résultat
J (24 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	Ig.[1]		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Pas d'hl.
J (24 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g. (toxine chauffée)		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Pas d'hl.
J (24 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02		Ig.	0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
J (27 inj,) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Pas d'hl.
R (14 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. presque complète.
R (27 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c, 0		Hl. légère.
R (40 inj.) 0 c, c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Pas d'hl.
V (33 inj.) 0 c, c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
V R (33 inj.) 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
1er Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
2e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
3e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
4e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c, c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
5e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
6e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
7e Cob. norm. 0 c. c. 03	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0		Hl. compl.
0	0 c. c. 02			0 c. c. 1	1 c. c. 0	0 c. c. 3	Hl. compl.
0	0 c. c. 02	I. g.		0 c. c. 1	1 c. c. 0	0 c. c. 3	Hl. compl.
0					1 c. c. 0	0 c. c. 7	Pas d'hl.

1. Ig. = *toujours* 1/50 de cmc.

En résumé, le sérum du cobaye T, qui a évolué vers l'hypers., déviait tout à fait le complément après 24 et 27 injections — le sérum du cob. R, qui a évolué également vers l'hypers., déviait très peu après 14 injections, beaucoup après 27 et d'une façon absolue après 40 — les sérums des cob. V et V R, qui ont évolué vers l'immunité, ne déviaient pas du tout après 33 injections — le sérum du cob. T s'est montré actif vis-à-vis de la toxine diphtérique bouillie, inactif vis-à-vis de la toxine tétanique (non bouillie).

Voici qui va montrer, maintenant, que le sérum d'un sujet immun peut contenir de la lysine et celui d'un sujet hypers. de la coaguline.

En diminuant la quantité de complément, de telle sorte que le témoin « sérum normal » détermine une très légère déviation (hémolyse presque complète) nous avons vu le sérum V ne permettre qu'une hl. légère et le sérum VR dévier tout à fait.

On mélange I. g. de toxine avec 1/2 cmc d'eau physiologique, de sérum normal et des sérums T, R ou V et on injecte *immédiatement* dans les muscles (cobayes).

Voici les résultats obtenus :

Eau physiologique	+ en 2 jours 1/2.
Eau physiologique	+ en 2 jours 1/2.
Sérum normal	+ en 2 jours 1/2.
Sérum normal	+ en 2 jours 1/2.
Sérum T (24 injections)	+ en 2 jours 1/2.
Sérum T (27 injections)	+ en 2 jours 1/2.
Sérum R (27 injections)	+ en 2 jours 1/2.
Sérum V (33 injections)	Aucun effet.
Sérum V (33 injections)	Aucun effet.

On mélange I. g. de toxine avec 1/2 cmc de sérum R et on injecte, *après 1/2 heure de contact*, dans les muscles d'un [cob]aye : *aucun effet* (rien de tel avec le sérum normal).

On nous pardonnera de ne pas avoir effectué plus de recherches avec nos 4 cobayes, quand on aura réfléchi à l'action perturbatrice que des saignées plus nombreuses eussent fatalement exercée sur une expérience qui se déroulait d'une façon aussi heureusement schématique.

2e *Expérience avec la toxine diphtérique* (*résumée*). 4 forts cobayes ont reçu quotidiennement, par la voie intramusculaire, 1/50 de la dose mortelle de toxine. Deux d'entre eux ont maigri de plus en plus et sont morts, respectivement, après 28 et 31 injections. Les deux autres n'ont perdu que peu de leur poids et ont été éprouvés, dans les muscles, avec 2 doses mortelles : l'un a succombé en 2 jours 1/2, l'autre en 5 jours (ce second animal évoluait, évidemment, vers l'immunité). Le sérum des 4 cobayes, examiné après 19 injections (avec 0cc,05 de complément ancien), déviait en présence de la tox. diphtérique et pas en présence de la t. tétanique ; un mélange de plusieurs sérums normaux ne déviait point, dans les mêmes conditions, en présence de la tox. diphtérique.

1re *Expérience avec la toxine tétanique* (*résumée*). 6 forts cobayes ont reçu quotidiennement, par la voie intramusculaire, 1/50 de la dose mortelle (en 2 jours 1/2) de toxine (c'est-à-dire 1/50 de cmc). Ils ont succombé, respectivement, après 17, 17, 19, 24, 30 et 35 injections, ayant offert une symptomatologie très variable, comme cela s'observe toujours en pareil cas.

Un mot à ce sujet. Les cobayes, traités par de faibles doses quotidiennes de toxine tétanique (voie intramusculaire), présentent des accidents du type splanchnique, avec ou sans accidents du type musculaire. Chez une minorité, on observe, transitoirement, de la raideur générale et du frémissement vibratoire (modérés) ; ces animaux maigrissent plus ou moins et meurent d'habitude brusquement, à un moment donné. Chez d'autres, s'établissent et persistent en s'exagérant très lentement, la raideur et le frémissement, accompagnés assez souvent de crises et de convulsions (spontanées et, *surtout*, provoquées par la manipulation des sujets). Enfin, dans la majorité des cas, se développent des contractures musculaires le plus ordinairement localisées aux pattes postérieures (bien que les 4 membres aient reçu la même dose de toxine, *exactement*), mais pouvant aussi atteindre les antérieures. Les manifestations musculaires sont *toujours* accompagnées de phénomènes splanchniques ; on vient de voir que la réciproque n'est point vraie.

Revenons à nos 6 cobayes. Leur sérum, examiné après 17 injections (avec 0cc,05 de complément ancien), déviait en présence de la toxine tétanique, ce que ne faisait point un mélange de plusieurs sérums normaux témoins.

2e *Expérience avec la toxine tétanique* (*résumée*). 4 forts cobayes ont reçu quotidiennement, par la voie intramusculaire, 1/100 de la dose mortelle de toxine. 3 d'entre eux ont offert des phénomènes toxiques marqués et ont succombé, respectivement, après 37, 63 et 79 injections. Le 4e n'a montré qu'un peu de raideur et de frémissement vibratoire, dans les premiers temps ; éprouvé, après 63 injections, avec une dose mortelle, il a succombé comme le témoin. Le sérum des 4 cobayes a été étudié au bout de 26 et de 54 injections (avec 0cc,05 de complément ancien). Après la 26e, 3 déviations sur les 4 sérums ; après la 54e, tous les sérums ont dévié en présence de la toxine tétanique (même bouillie), mais pas en présence de la toxine diphtérique. Un mélange de plusieurs sérums normaux ne déviait point, dans les mêmes conditions, en présence de la tox. tétanique.

3e *Expérience avec la toxique tétanique* (*résumée*). 4 forts cobayes ont reçu quotidiennement, par la voie abdominale, 1/100 de la dose mortelle de toxine : phénomènes splanchniques modérés ; saignée à blanc après 31 injections : tous les sérums dévient.

Nous pensons avoir établi, d'une façon indiscutable, l'existence des toxinolysines. On pourrait, à la rigueur, objecter que les anticorps, révélés grâce à la méthode de Bordet-Gengou, avaient été engendrés, dans l'organisme des cobayes, soit par les albuminoïdes des milieux de culture, soit par ceux de la substance des bacilles diphtérique ou tétanique. La spécificité des réactions répond à la première objection, l'absence de déviation du complément, observée avec un sérum antidiphtérique et un sérum antitétanique, très puissants tous les deux, répond à la

seconde. Ne doutons donc pas plus des toxinolysines que des antitoxines.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ (ACQUISES) EN GÉNÉRAL. — MANIÈRE DONT ON PEUT SE REPRÉSENTER LE CONFLIT DES ANTIGÈNES AVEC L'ÉCONOMIE ET LA FORMATION DES ANTICORPS ARTIFICIELS.

I

L'*immunité* (imm. acquise des auteurs — opposée à la résistance, ou imm. naturelle) représente une propriété de l'organisme, préalablement traité par un antigène, en vertu de laquelle il détruit cet antigène *à moins de frais* que l'organisme normal — ou, même, arrive à le détruire, quand ce dernier demeurerait totalement impuissant. Dans l'immunité type, la destruction s'opère « *silencieusement* », c'est-à-dire sans aucune réaction appréciable.

L'*hypersensibilité* (hyp. acquise des auteurs — opposée à la sensibilité naturelle) représente une propriété de l'organisme, préalablement traité par un antigène, en vertu de laquelle il détruit cet antigène *à plus de frais* que l'organisme normal — ou, même, succombe au cours de la destruction, quand ce dernier finirait par résister. Dans l'hypersensibilité type, la destruction s'opère très « *bruyamment* », au point de revêtir quelquefois le caractère d'un phénomène « *explosif* ».

Bien que diamétralement opposées en soi, comme il résulte de leur définition, l'immunité et l'hypersensibilité peuvent cependant coexister chez un même sujet, voire s'y succéder (souvent à plusieurs reprises). Elles peuvent, d'autre part, prendre naissance soit en dehors de tout phénomène d'empoisonnement, soit au milieu d'accidents toxiques plus ou moins graves. On ne saurait concevoir, en sa complexité, la façon dont l'organisme devient hyperrésistant et hypervulnérable, c'est-à-dire la façon dont se développent les anticorps qui président à ces transformations inverses de l'équilibre normal, sans s'être fait préalablement une idée aussi nette que possible du sort des antigènes *in vivo*, c'est-à-dire leur conflit avec l'économie.

II

Dans l'état actuel de la science, on ne peut caractériser les antigènes que par leur pouvoir d'engendrer les anticorps. Les antigènes « classiques » se ramènent, en dernière analyse, aux 3 groupes suivants : *enzymes*, *toxines solubles* et *endotoxines*. Nous ne nous occuperons que des deux derniers. Ainsi qu'il a été rappelé au début de ce travail, il convient de considérer comme toxines solubles (brutes) les constituants des extraits cellulaires et des filtrats microbiens qui engendrent les *toxines vraies* lors de la toxinolyse; et comme endotoxines (brutes) les parties de la substance des cellules et les constituants des extraits cellulaires et des humeurs qui engendrent les *endotoxines vraies* lors de la cytolyse ou de l'albuminolyse. Indiquons, immédiatement, un caractère différentiel important qui sépare, selon nous, les « toxines solubles » des « endotoxines » : seules, les premières offrent réellement de l'affinité pour les « éléments nobles ».

Une fois introduits dans l'organisme, les antigènes y demeurent localisés, ou bien s'y répandent : par la voie lymphatique, la voie sanguine ou la voie nerveuse (toxine tétanique, virus rabique). *Suivant leur état physique* (liquides, cellules), *ils peuvent être fixés* ou *englobés* par certains éléments (ni la fixation ni l'englobement ne sont constants — loin de là). Et ces cellules les transforment plus ou moins complètement, plus ou moins rapidement, au moyen des *anticorps normaux* qu'elles contiennent. Nous pensons que la transformation commence en dehors des cellules, mais y demeure peu importante, sauf lorsque les anticorps (toujours présents, suivant nous, dans les humeurs — ne fût-ce qu'à l'état de traces) atteignent un haut degré de concentration et trouvent, devant eux, des antigènes très sensibles.

Les antigènes subissent, de la part de l'organisme, une véritable *digestion* (Metchnikoff). Or, on admet de plus en plus, aujourd'hui, que tout acte digestif exige le concours successif d'une coaguline et d'une lysine. La même conception s'impose d'autant mieux, pour expliquer le mode d'action des anticorps normaux, que ceux-ci nous apparaissent toujours sous les formes *exclusives* de coagulines et de lysines. Toutefois, les proportions respectives des deux anticorps peuvent varier et les

effets produits traduisent ces variations. Ainsi, étant donné un antigène déjà toxique, si la coagulation est forte, la lyse (secondaire) demeurera lente et la substance étrangère disparaîtra, petit à petit, sans avoir altéré l'organisme par les poisons vrais qu'elle recélait et qui ont été libérés à dose constamment imperceptible — si la coagulation est faible, la lyse sera rapide et suivie d'une intoxication, plus ou moins marquée selon les cas.

La transformation des antigènes s'opère essentiellement, cela va de soi, dans les cellules jouissant du pouvoir de les fixer ou de les englober. Mais il faut distinguer entre les *éléments* « *nobles* » et les autres. Les premiers, très délicats et peu ou point susceptibles de régénération, périront au cours de la lutte, ou, du moins, souffriront vivement et demeureront incapables de donner naissance à des anticorps artificiels, c'est-à-dire incapables de s'immuniser et de s'hypersensibiliser. Prenons, comme exemple, la cellule nerveuse, élément noble par excellence. Les recherches de Roux et Borrel ont établi que cette cellule n'acquiert aucune résistance, chez les sujets devenus réfractaires au tétanos. Nous avons constaté, d'autre part, qu'elle n'acquiert point une plus grande vulnérabilité chez les sujets hypersensibilisés vis-à-vis des toxines tétanique ou diphtérique. — Les *cellules* « *non nobles* », *mais jouissant du pouvoir fixateur ou englobant*, cellules robustes et susceptibles de régénération, constituent, au contraire, le *système formateur des anticorps* et, partant, la source *unique* de l'immunité et de l'hypersensibilité. Ces deux facultés peuvent donc être portées au plus haut degré sans qu'à aucun moment du « traitement » survienne le moindre trouble de l'économie. Mais tel n'est point le cas bien souvent et l'apparition fréquente de manifestations toxiques, au cours de l'immunisation et de la sensibilisation, rendent le tableau clinique des plus complexes. Examinons, brièvement, ce qui se passe lors du conflit de l'organisme avec les « toxines solubles » et les « endotoxines ».

« Toxines solubles. » — Soient, à nouveau, la cellule nerveuse et la toxine tétanique. Cette dernière, déposée dans les muscles, chemine, on le sait, en majeure partie le long des nerfs et gagne les centres; les éléments moteurs la fixent, la décomposent et s'intoxiquent *activement* avec le *poison vrai* libéré; leur

intoxication active se révèle par la contracture caractéristique (tétanos musculaire). Afin de connaître, maintenant, le rôle des éléments « non nobles » fixateurs, envisageons la fraction de toxine qui ne suit pas la voie nerveuse, ou, pour exagérer les phénomènes, introduisons la totalité du poison soit dans le système sanguin, soit dans un viscère. La symptomatologie va changer *radicalement* et nous allons nous trouver en présence du tétanos généralisé d'emblée (tétanos splanchnique de Borrel et Binot). Faut-il attribuer exclusivement la transformation clinique observée à ce que la toxine chemine — toujours en majeure partie — par une autre voie (grand sympathique — Borrel); ou bien à ce que l'attaque des centres s'opère d'une façon diffuse (par la totalité des filets nerveux, dont les ramuscules plongent dans une vraie solution de toxine — Morax et Marie)? Et ne conviendrait-il pas de faire intervenir, *pour une part qui reste à déterminer*, la fixation du *poison brut* sur les cellules « non nobles », lesquelles en libèrent le *poison vrai*, susceptible de provoquer l'empoisonnement *passif* des centres. A l'appui de cette manière de voir, nous invoquerons la constance des phénomènes de tétanos généralisé et, parfois, leur présence exclusive, chez nos cobayes *hypersensibilisés par la voie intramusculaire*. (Ici, le système formateur des anticorps produit une quantité de toxinolysine fort supérieure à celle qui existe à l'état normal, ainsi que nous l'avons établi précédemment). Si des différences profondes séparent déjà le tétanos musculaire du tétanos généralisé, que dire du *syndrôme de Behring*, observé chez les chevaux « hyperimmunisés », qui deviennent subitement « hypersensibles » (voir plus loin)? Le caractère suraigu des accidents ne saurait s'expliquer ici que par une toxinolyse anormalement rapide.

Suivant donc que la toxine tétanique est décomposée au niveau de la cellule nerveuse ou au niveau du système formateur des anticorps, l'empoisonnement, soit direct soit indirect, des centres donnera naissance à tels symptômes ou à tels autres. Et, dans le cas d'empoisonnement indirect, cette symptomatologie — ainsi que nous le verrons — variera d'acuité avec l'intensité de la toxinolyse, c'est-à-dire, d'une part, avec la teneur de l'organisme en lysine et, d'autre part, avec la quantité de poison administrée.

« ENDOTOXINES ». — Elles engendrent, plus facilement encore que les « toxines solubles », des accidents d'empoisonnement au cours de l'immunisation et de l'hypersensibilisation. Les endotoxines, avons-nous dit, ne sont point fixées ou englobées par les cellules « nobles », mais bien par certains éléments « non nobles » qui les détruisent, en libèrent des *poisons vrais* et, partant, s'intoxiquent directement et empoisonnent indirectement toute l'économie.

(Inutile d'insister sur le cas, très fréquent, où la substance introduite dans l'organisme contient à la fois une « toxine soluble » et une « endotoxine »).

III

D'où proviennent les anticorps artificiels, agents déterminants de l'immunité et de l'hypersensibilité? De la même source, évidemment, que les anticorps normaux; puisque, d'une part, ils offrent des propriétés analogues et que, d'autre part, une création *ex nihilo* demeurerait totalement incompréhensible. Mais, ici, la production devient exubérante et se double de l'apparition d'une électivité bien connue vis-à-vis de l'antigène correspondant. L'augmentation numérique peut être conçue sans peine, tandis que nous ne saurions nous faire actuellement qu'une représentation très grossière de la spécificité.

L'économie animale recèle donc son « fonds » d'anticorps *indifférents*, c'est-à-dire *multispécifiques*, dont une proportion, impossible à évaluer, se multiplient et deviennent *électifs*, c'est-à-dire *unispécifiques*, au cours du « traitement » par les antigènes. Pareil phénomène de différenciation se manifeste d'ailleurs, sous des influences inconnues, au sein de l'organisme normal et c'est pourquoi, suivant les espèces et les individus, les humeurs ou extraits cellulaires possèdent déjà, au regard de tels ou tels antigènes, une activité marquée, origine de la résistance et de la sensibilité des sujets « neufs ». La formation d'anticorps naturels différenciés constitue un procès des plus obscurs et la multiplicité de ces anticorps déroute l'esprit. Chacun pense et répète volontiers « qu'il doit y avoir là-dessous quelque chose », mais quoi?

La production des anticorps artificiels se trouve liée à l'*organisme*, à l'*antigène* et aux *conditions d'introduction de celui-ci;* nous aurons, maintes fois, l'occasion de le montrer. On comprend assez bien que la destruction trop rapide des antigènes ne permette point la production d'anticorps ou vienne, tout au moins, limiter la durée du phénomène.

Dans la majorité des cas, l'économie répond à l'invasion par les antigènes en donnant naissance, parallèlement, à des coagulines et à des lysines, dont les quantités respectives demeurent du reste fort variables. Mais il est des circonstances — principalement expérimentales — où une seule espèce d'anticorps se trouve élaborée (elle sera alors « complétée », plus ou moins efficacement, par l'anticorps normal opposé). *D'une manière générale*, on remarque que l'introduction, dans l'économie, soit d'antigènes très coagulés, soit d'antigènes très abondants, soit, *a fortiori*, d'antigènes très coagulés et très abondants, favorise la formation de coagulines — et que, par contre, l'introduction soit d'antigènes très décoagulés, soit d'antigènes peu abondants, soit, *a fortiori*, d'antigènes très décoagulés et peu abondants, détermine des effets opposés. *Toutefois*, le *facteur antigène* n'est point le seul en jeu et il faut tenir également grand compte des *conditions d'introduction de l'antigène* et surtout de *l'espèce animale*, qui peuvent contrebalancer, voire même supplanter l'influence, habituellement prépondérante, de ce facteur.

Selon les circonstances, la production des anticorps affecte une durée variable. Au début, il peut y avoir beaucoup d'anticorps « disponibles »; la proportion diminue ensuite peu à peu et devient finalement inappréciable. Les anticorps réapparaissent lors d'une nouvelle administration d'antigène et plus rapidement que la première fois, s'il ne s'est pas écoulé trop de temps entre la première et la seconde séance. Mais ce sont là des faits de connaissance banale et il serait superflu d'y insister; bornons-nous à rappeler que la formation des anticorps comporte une limite, d'ailleurs très variable d'un cas à l'autre.

Il serait fort tentant d'admettre qu'il n'existe, pour chaque antigène, qu'un seul anticorps homologue, à la fois coagulant et décoagulant suivant les conditions ambiantes. Cette hypothèse,

vers laquelle nous inclinons de plus en plus, simplifierait énormément l'explication des faits ; mais il faut attendre, avant de l'adopter, le résultat de nouvelles recherches. Quant à la question de savoir si les actions d'anticorps sont réellement dues à des substances matérielles ou doivent être rapportées à des propriétés de la matière, nous nous déclarons incapables d'y fournir une réponse.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ VIS-A-VIS DES « TOXINES SOLUBLES »

La production de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des « toxines solubles » se trouve liée à celle des anticorps déterminants et, partant, comme nous l'avons déjà dit, à l'organisme, à l'antigène et aux conditions d'introduction de celui-ci. — Organisme. Nous rencontrons d'abord l'influence de *l'espèce* (le cobaye est bien plus difficile à immuniser que le cheval avec la toxine diphtérique pure); puis, celle de *l'âge* (les jeunes chevaux deviennent, plus facilement que les adultes, hypersensibles à la toxine diphtérique. — Behring) ; enfin, celle de *l'individu* (le même traitement immunise certains cobayes vis-à-vis de la toxine diphtérique et rend les autres hypersensibles, comme nos expériences le démontrent *schématiquement*). La manière variable dont intervient l'organisme s'explique aisément par la proportion variable des toxinocoagulines et des toxinolysines « dès le départ ». — Antigène. La *nature* de celui-ci offre, on le conçoit, une importance capitale (on peut vacciner les chevaux et une certaine proportion de cobayes avec la toxine diphtérique *pure*, tandis que l'immunisation des premiers demeure impossible avec la toxine tétanique *pure* et celle des seconds irréalisable sans recourir au procédé de Bruck). Aussi, ne faut-il point s'étonner de voir les résultats se modifier, parallèlement aux *modifications* apportées aux poisons. Les toxines diphtérique ou tétanique, coagulées par la chaleur (Fränkel), le trichlorure d'iode (Behring et Kitasato), le liquide de Gram (Roux), deviennent maniables et constituent une source excellente d'antitoxines — à la condition, toutefois, que l'altération n'ait pas été poussée trop loin (Bruck). Elles permettent une immunisation facile et profitable pratiquement, en supprimant l'affinité des

poisons pour les éléments « nobles » et en « neutralisant » l'action lytique normale ; d'où, absence de phénomènes toxiques et prédominance assurée des coagulines dès le début. Lorsque l'on passe de la toxine modifiée à la toxine pure, l'hypersensibilité redevient possible ; bien plus, elle reparaît immédiatement, sous une forme bénigne, celle des œdèmes locaux (Behring), dont nous nous occuperons par la suite. C'est pourquoi l'un de nous, chargé jadis de préparer, en Turquie, les sérums antidiphtérique et antitétanique, s'était arrêté finalement à l'emploi *exclusif* des toxines iodées, qui lui ont toujours donné pleine satisfaction. — Conditions d'introduction de l'antigène. Au début, quand on peut employer les toxines pures, on est bien obligé de s'en tenir aux petites *doses* répétées ou lentement croissantes. Les petites doses quotidiennes peuvent réussir, chez le cobaye, avec la toxine diphtérique, mais c'est là un procédé limite, car il engendre, en quantités très voisines, de la coaguline et de la lysine. La présence concomitante de celles-ci a été mise hors de doute par nos expériences (d'anciennes recherches avaient déjà montré à l'un de nous que le sérum des cobayes hypersensibles contient de l'antitoxine ; constamment, semble-t-il) ; tout dépend donc du facteur individuel. Les petites doses quotidiennes ne réussissent pas, chez le cobaye, avec la toxine tétanique ; les sujets deviennent, habituellement, hypersensibles. Nous disons habituellement et non toujours, comme Knorr, parce que l'un de nous a obtenu plusieurs fois, dans des expériences antérieures, un état d'équilibre tel que les sujets arrivaient à supporter, sans dommage, dans les muscles (et surtout dans le péritoine), plus des 50/50 ou des 100/100 de la dose mortelle (en 2 à 3 jours), sans acquérir d'immunité vis-à-vis de cette dose mortelle. Chez le lapin, les petites doses quotidiennes de toxine tétanique engendrent l'immunité, malgré la production initiale d'une contracture musculaire (Knorr), ce qui démontre, une fois de plus, que les cellules nerveuses ne prennent aucune part à la formation des antitoxines. Chez le cheval, dont on connaît l'exceptionnelle sensibilité vis-à-vis de la toxine tétanique, les petites doses quotidiennes de ce poison, ainsi que les doses d'abord infinitésimales, puis doublées chaque jour, ne réussissent à produire que l'hypersensibilité (Behring, Adilbey et l'un

de nous). Au contraire, avec la toxine diphtérique, on évite sans peine tout accident, quand on ne cherche pas à aller trop vite. (Rappelons que le sérum normal de cheval contient de l'antitoxine diphtérique, décelable par les méthodes courantes).

L'emploi des toxines iodées (diphtérique et tétanique) permet d'amener sans danger les chevaux à un degré marqué d'immunité; on passe alors, habituellement, à l'injection des toxines pures. Vaut-il mieux, pour obtenir de bons sérums et éviter les accidents d'hypersensibilité, recourir aux faibles doses répétées ou aux fortes doses espacées? La pratique montre l'avantage des premières sur les secondes. Il va de soi que l'introduction d'une dose massive de poison, en abaissant le titre antitoxique dans des proportions infiniment supérieures à celles que nécessiterait la « neutralisation » *in vitro* (Salomonsen et Madsen), ajourne le retour du sérum à un titre utilisable. D'autre part, cette grande quantité de poison peut provoquer l'apparition d'accidents susceptibles non seulement de gêner la néoformation de l'antitoxine, mais encore d'enlever très vite les animaux. Il faut distinguer, ici, de toute nécessité, entre les phénomènes toxiques proprement dits et les phénomènes d'hypersensibilité. Les premiers *surviennent après le temps d'incubation habituel* et traduisent, comme nous le savons, l'action directe, sur les cellules nerveuses, du poison brut administré. Les seconds (syndrôme de Behring) *éclatent prématurément* et doivent être rapportés à la décoagulation rapide de la toxine par la toxinolysine; ils révèlent à nos yeux l'action indirecte, sur les cellules nerveuses, du poison vrai libéré.

On pourrait nous faire la remarque suivante : « Les chevaux qui succombent au syndrôme de Behring conservent parfois de l'antitoxine dans leur sang ; d'un autre côté, les humeurs des sujets immunisés ne semblent pas contenir toujours de la lysine (d'après vos propres expériences); comment, alors, expliquer la libération du poison vrai ? » Voici ce que nous répondrions. Bien que nous n'ayons point rencontré de lysine à l'examen (*in vitro*) d'*un* sérum antidiphtérique et d'*un* sérum antitétanique *très actifs*, il est hors de doute que l'organisme des chevaux immunisés doit en renfermer au moins une certaine proportion, puisque ces animaux présentent *toujours* des œdèmes au point d'injection ; et, comme les œdèmes deviennent énormes chez

les chevaux hypersensibles, il est également hors de doute que la quantité de lysine doit être assez notable dans ce dernier cas. Qu'arrive-t-il alors, quand on administre une grande masse de poison brut sous la peau? Toute l'antitoxine présente et celle qui afflue pendant quelque temps ne peuvent déterminer qu'une coagulation incomplète de la toxine introduite et il suffit de bien peu de lysine pour libérer le *quantum* de poison vrai nécessaire à la génèse des accidents. Nous voyons donc que la prédominance même très marquée), au sein de l'économie, d'un anticorps sur l'anticorps opposé ne neutralise point forcément l'action de ce dernier et qu'il convient de faire intervenir encore deux facteurs secondaires : la *masse de l'antigène*, dont il vient d'être question et son *mode d'introduction*, au sujet duquel nous allons entre dans quelques détails.

On peut vacciner le lapin, contre la toxine diphtérique, en déterminant la « fixation forcée » de celle-ci au niveau du tissu cellulaire de l'oreille ; pour y parvenir, Rehns pratiquait l'injection de plusieurs doses mortelles dans un œdème passif. Bruck a réalisé, chez le cobaye, une « fixation » analogue avec la toxine tétanique ; il injectait celle-ci dans le tissu cellulaire très dense de la plante du pied. Par chacune des deux techniques indiquées, on supprime l'affinité des poisons pour les cellules nobles et on assure, du même coup, leur élabo ration de la part des autres. — Chez les « chevaux-serum » arrivés au stade de la toxine pure, vaut-il mieux continuer l'emploi de la voie sous-cutanée ou passer à la voie intra-veineuse? L'expérience montre qu'il vaut mieux, autant que possible, s'en tenir à la première, car elle amène un trouble moins brutal de « l'équilibre antitoxique ». Au point de vue des accidents d'hypersensibilité, il se passe, pour les injections intraveineuses, la même chose que chez les « lapins-Arthus » ; dans la majorité des cas, on ne rencontre point ces accidents, mais, quand ils se manifestent, leur gravité est d'ordinaire extrême. C'est affaire d'élimination ou de non élimination du poison vrai. Une voie excellente, mais assez peu pratique, est la voie intraabdominale. Son emploi met facilement à l'abri des phénomènes d'hypersensibilité, ici comme dans tous les cas semblables (voir le travail suivant), parce qu'au sein de la cavité péritonéale l'antitoxine se trouve en quantité suffisante

pour coaguler rapidement et fortement des masses de poison même assez élevées.

Nous n'avons rien dit de l'usage des mélanges « toxine-antitoxine », préconisés en Russie et en Amérique. Ces mélanges rendent des services incontestables au début de l'immunisation antidiphtérique et permettent d'« amorcer » sans danger l'immunisation antitétanique. Leur valeur réside dans ce fait qu'ils représentent des poisons spécifiquement coagulés.

A côté de l'*immunité active*, vis-à-vis des « toxines solubles », se place l'*immunité passive* transmise, *artificiellement*, par les sérums (Behring et Kitasato) ou, *naturellement*, par l'hérédité (expériences d'Ehrlich avec la toxine tétanique, l'abrine, la ricine et la crotine — expériences de Wernicke avec la toxine diphtérique) et la lactation (expériences d'Ehrlich avec la toxine tétanique et les 3 toxines végétales qui viennent d'être indiquées).

A côté de l'hypersensibilité « active », vis-à-vis des toxines, se place l'hypersensibilité « passive » transmise, artificiellement, par les sérums (expériences de Richet avec la mytilocongestine).

Il ne sera pas inutile, maintenant, de rappeler comment se présentent, objectivement, l'immunité et l'hypersensibilité. L'immunité peut être réalisée, suivant les cas, avec ou sans phénomènes toxiques concomitants ; nous avons indiqué, clairement, la double source de ceux-ci ; inutile d'y revenir, inutile, également, d'insister sur les inconvénients qui en résultent. Lorsqu'on s'en tient, chez le cheval, aux toxines iodées, il semble possible d'obtenir l'*immunité pure ;* par contre, l'emploi des poisons non modifiés engendre toujours un certain degré d'hypersensibilité et comporte par cela même l'éventualité d'accidents graves. — L'hypersensibilité peut être réalisée sans phénomènes toxiques, chez le cheval, quand elle « double » l'immunité. Nous n'avons jamais réussi à produire l'*hypersensibilité pure*, chez le cobaye, avec les toxines diphtérique ou tétanique, à l'aide du procédé qui permet d'obtenir le « phénomène de Th. Smith ».

On a montré plus haut comment se manifeste l'hypersensibilité, chez les cobayes qui reçoivent, quotidiennement, de faibles doses de toxine. Chez les chevaux immunisés contre le tétanos, ce seront tantôt des œdèmes modérés, tantôt des

œdèmes étendus et souvent accompagnés de troubles thermiques, de tremblements, de faiblesse musculaire... sans contractures, accidents suraigus qui peuvent entraîner la mort (Behring). Chez les chevaux immunisés contre la diphtérie, les phénomènes sont à peu de chose près les mêmes et revêtent parfois un caractère vraiment foudroyant (communication orale de notre collègue Martin.) Aussi ne manquera-t-on point de nous objecter qu'il ne s'agit, au fond de tout cela, que d'hypersensibilité vis-à-vis des « endotoxines » tétanique et diphtérique. Nous répondrons que, s'il en était ainsi, cette hypersensibilité ne pourrait pas être évitée *à coup sûr* en mélangeant aux toxines soit le sérum correspondant, soit, tout simplement, du liquide de Gram, aussi inactifs l'un que l'autre au regard des endotoxines. Les *poisons vrais*, libérés par les cellules non « nobles », sont évidemment très voisins, dans le cas du tétanos et dans celui de la diphtérie, mais les *poisons bruts* diffèrent essentiellement; ils apparaissent comme tout à fait spécifiques.

Le sérum équin normal, inoffensif pour les animaux « neufs », détermine des accidents plus ou moins sérieux et même mortels chez les animaux rendus hypersensibles à son égard (phénomène d'Arthus, phénomène de Th. Smith). La toxine diphtérique, inoffensive pour le rat « neuf », déterminerait, sans doute, des accidents chez le rat hypersensible ; mais, jusqu'ici, une telle hypersensibilité n'a pu être réalisée (Goodman). Il serait indiqué de poursuivre des recherches dans cette voie.

En terminant, nous mentionnerons l'intérêt qu'il y aurait aussi à étudier, au point de vue de la dualité des anticorps, le sérum des animaux traités par les enzymes. Nul doute que l'on y rencontre, à côté des antienzymes déjà connus et qui représentent certainement les *enzymocoagulines*, toute la série parallèle des *enzymolysines*.

Paris, juillet 1907.

RECHERCHES SUR L'ORIGINE DES PRÉCIPITINES

PAR LE D[r] J. CANTACUZÈNE.

I

Il résulte des recherches de Pfeiffer et Marx [1], de Wassermann [2], de Levaditi [3] que les organes lymphoïdes (rate, ganglions, moelle osseuse) représentent le lieu de formation des anticorps bactériolytiques; d'autre part les travaux de Metchnikoff [4], puis de Tarassévitch [5] permettent d'attribuer une origine semblable aux anticorps cytolytiques, en particulier aux hémolysines qui semblent prendre naissance surtout dans les organes riches en macrophages (rate, ganglions, épiploon); dans un travail relatif à la résorption des cellules hépatiques injectées dans l'organisme, j'ai signalé [6] le remarquable caractère glandulaire que présentent les macrophages dans les foyers où s'opère cette résorption (surface de l'épiploon, rate) ainsi que la fonte de ces éléments dans les humeurs ambiantes, ce qui permet de supposer que c'est à eux que revient l'élaboration de l'anticorps hépatolytique.

V. Dungern [7], étudiant la formation des précipitines spécifiques chez les lapins auxquels il inocule du plasma de *Maja*, conclut que les éléments figurés du sang participent à cette élaboration; Kraus et Levaditi [8] constatent que l'épiploon des lapins qui ont reçu, dans la cavité péritonéale, une injection de sérum de cheval fournit un extrait précipitant pour l'antigène à un moment où le sang ne contient pas encore de précipitine : ils en tirent la conclusion que les leucocytes ne sont pas étrangers à l'élaboration de l'anticorps; étendant ces recherches aux organes lymphoïdes, Kraus et Schiffmann [9] aboutissent à des résultats négatifs; leurs extraits d'organes n'ont montré aucune

1. *Zeitschr. f. Hygiene* 1898.
2. *Berl. Klin. Woch.* 1898. N° 10.
3. *Annales Inst. Pasteur* 1904.
4. *Ann. Inst. Pasteur* 1899.
5. *Ann. Inst. Pasteur* 1902.
6. *Ann. Inst. Pasteur* 1902.
7. *Die Antikörper; Fischer.* Iéna, 1903.
8. *C. r. Académie des Sciences*, 5, IV 1904.
9. *Ann. Inst. Pasteur* 1906.

propriété précipitante et les auteurs admettent, par exclusion, que « la genèse des précipitines s'opère dans le système vasculaire », probablement dans les endothélia.

Le lieu de formation des précipitines reste donc à déterminer ; j'ai repris l'étude de ce problème en modifiant légèrement la technique employée par Kraus et Schiffmann, et en me servant d'extraits d'organes notablement plus concentrés que les leur[1]. On va voir que ce procédé m'a permis d'arriver à des résultats positifs en ce qui regarde les organes formateurs de l'anticorps précipitant.

II

J'ai employé le lapin comme animal d'expérience ; l'antigène choisi était le sérum de cheval, non chauffé. Les doses d'antigène injectées, soit sous la peau, soit dans le péritoine, ont varié de 5 à 20 c. c. en une seule fois; la plupart des expériences dont je donne les résultats ont été faites avec des doses de 10 c. c.

La rate et les ganglions, préalablement bien lavés dans la solution physiologique de NaCl, étaient broyés puis émulsionnés dans 4 c. c. de cette solution, ce qui, pour la rate par exemple, représente une émulsion au 1/4 environ; mes extraits étaient donc infiniment plus concentrés que ceux de Kraus et Schiffmann, qui opéraient avec des émulsions au 1/10. La moelle des deux fémurs était broyée dans un volume de 2 c. c. de liquide.

Les émulsions, après avoir séjourné de 6-7 heures à la température du laboratoire, étaient centrifugées, filtrées sur papier, puis mélangées, dans des tubes à faible diamètre, avec du sérum de cheval, non chauffé, le titre des mélanges étant pour 1 c. c. de sérum de cheval de 1 c. c., 1/2 c. c. 1/4 c. c. d'extrait. Ces mélanges, après avoir séjourné deux heures à la température de 37°, afin d'amorcer le phénomène de précipitation, étaient laissés ensuite 22 heures à la température du laboratoire.

Je signale ici quelques faits dont il faut tenir compte sous peine de méconnaître, parfois, la formation de précipitines dans le mélange examiné :

Quand on mélange avec du sérum de cheval soit de la lymphe péritonéale de lapin, diluée et centrifugée, soit un extrait

1. *C. r. Soc. biol.* 1907. T. XIII, p. 393

de moelle osseuse, on voit se former lentement dans le liquide un coagulum absolument *translucide* qui débute, dans le tube à expérience, au contact de la face supérieure de la colonne liquide puis, à partir de cette surface comme base, pend, sous forme de cône allongé dans l'intérieur de la masse, dont il occupe environ les 2/3 de la hauteur (fig. *a*).

La transparence de ce coagulum est telle qu'il faut souvent recourir à l'emploi de la loupe pour le voir. Presque constant avec les extraits d'exsudat péritonéal ou de moelle osseuse, ce coagulum n'apparaît que rarement avec l'extrait de rate (6 fois sur 53 cas). Or il arrive fréquemment que le précipité formé dans le mélange, au lieu de se collecter au fond du tube reste emprisonné à l'intérieur de ce coagulum sous forme d'un pointillé très fin qui n'est souvent analysable qu'à la loupe et qui, à l'œil nu, donne simplement une certaine opacité au coagulum décrit plus haut (fig. *b*); si bien que, dans bon nombre de cas, le précipité ainsi maintenu en suspension peut être méconnu. Il arrive parfois que la formation du précipité débute avant celle du coagulum transparent : le dépôt floconneux se rassemble alors au fond du tube et se constate sans peine à l'œil nu.

L'étude des extraits de rate (et aussi, mais plus rarement, celle des extraits de ganglions) présente une autre cause d'erreur. Ce mélange acquiert assez rapidement un état visqueux qui maintient le précipité uniformément distribué dans toute la masse liquide, le rend ainsi difficile à distinguer sans loupe et l'empêche, quand il n'est pas très abondant, de tomber au fond du tube. Il faut alors, pour déterminer cette chute, imprimer au tube une série de secousses brusques, ou même centrifuger pendant deux ou trois minutes.

III

ACTION PRÉCIPITANTE DES EXTRAITS D'ORGANES

Disons de suite que, chez les lapins inoculés au sérum de cheval, seuls les organes lymphoïdes (rate, ganglions, moelle osseuse) et le pancréas nous ont fourni des extraits précipitants

pour l'antigène. Nous pouvons éliminer le rôle du pancréas comme organe formateur des précipitines du sang : en effet, la propriété précipitante de cette glande existe aussi bien chez l'animal normal (chèvre, chien) que chez les individus qui ont reçu du sérum; de plus, chez des chiens dépancréatisés, l'inoculation de sérum a été suivie de l'apparition des précipitines dans le sang aussi bien que les chiens témoins.

(J'adresse tous mes remerciements à mon excellent collègue et ami, le Dr Calugareanu, qui a bien voulu se charger de la difficile opération de l'ablation du pancréas chez les chiens en expérience.)

Voici un type d'expérience relative à l'origine lymphoïde des précipitines :

A une série de lapins, injectons *sous la peau* 10 c. c. de sérum de cheval non chauffé et examinons chaque jour, comparativement, le sérum sanguin et les extraits d'organes de l'un de ces animaux ; dès le 2e jour parfois, toujours dès le 3e jour qui suit l'inoculation, l'extrait de rate donne un précipité assez abondant, l'action précipitante croît le jour suivant, puis décroît pour devenir presque nulle vers le 7e jour. Les précipitines n'appaparaissent dans le sang que vers le 7e jour et sont à leur maximum vers le 9e ou 10e jour; à ce moment elles n'existent plus dans la rate.

Dans les extraits de ganglions mésentériques, les précipitines apparaissent en même temps que dans la rate, mais en disparaissent plus tôt; les ganglions donnent d'ailleurs toujours une précipitation moins abondante que la rate.

Enfin la moelle osseuse livre de faibles quantités de précipitine vers le 2e et 3e jour; puis les anticorps disparaissent.

Il faut donc noter la précocité de l'élaboration de la précipitine dans les organes, le caractère transitoire de cette élaboration et le rôle prédominant de la rate dans ce phénomène.

L'action des extraits étudiés plus haut est spécifique; des sérums autres que l'antigène, tels que sérums de chèvre ou de cobaye, ne donnent aucune précipitation ou, dans de rares cas, en fournissent des traces avec l'extrait de rate seulement.

Quand les lapins reçoivent l'antigène non pas sous la peau, mais *dans la cavité péritonéale*, l'élaboration d'anticorps dans les organes est beaucoup moins abondante que dans le cas précédent; seuls la rate et les ganglions en fournissent des quantités assez faibles. Quant aux extraits de moelle osseuse ils ne présentent aucune propriété précipitante.

Si, chez les animaux qui ont reçu du sérum de cheval, soit sous la peau soit dans le péritoine, on pratique, 24 heures avant

de les sacrifier, une injection intrapéritonéale avec 10 c. c. d'une émulsion épaisse d'aleurone dans l'eau physiologique, on constate la même série de phénomènes que plus haut; seulement la formation de précipitine dans les organes est beaucoup plus abondante et plus précoce; 24 heures après l'injection sous-cutanée de sérum, la rate fournit déjà un extrait précipitant; il en est de même des ganglions. De plus, les précipitines font leur apparition dans le sang dès les 5e jour.

Là encore, et plus nettement même, on constate dans les organes lymphoïdes une production d'anticorps beaucoup moins énergique quand l'injection de sérum a lieu dans la cavité péritonéale, au lieu d'être faite sous la peau; l'extrait de rate n'acquiert la propriété précipitante que trois jours seulement après l'inoculation du sérum (au lieu de 24 heures); quant aux ganglions ils ne précipitent que faiblement.

Enfin la spécificité de la précipitine ainsi obtenue est moins absolue que chez les animaux qui n'ont pas reçu d'aleurone; les extraits de rate et de ganglions donnent, avec le sérum de chèvre, une précipitation, faible à la vérité et seulement lorsque l'extrait précipitant et l'antigène sont mélangés à volumes égaux.

On voit donc que l'injection d'aleurone, superpose son action à celle du sérum de cheval, pour stimuler l'activité des organes formateurs de précipitine; seulement cette stimulation n'est pas d'ordre spécifique, ainsi d'ailleurs que nous le verrons plus loin.

En résumé : les organes où s'élaborent la précipitine sont, par ordre d'activité décroissante : la rate, les ganglions, la moelle osseuse. Cette élaboration est précoce, dure peu de jours et cesse une fois la précipitine déversée dans le sang.

Le retard apporté dans l'apparition des précipitines chez les lapins splénectomisés de Kraus, confirme pleinement nos observations relativement à la fonction précipito-formatrice de la rate.

Signalons enfin le fait que jamais la bile ne paraît contenir de précipitines, même chez les animaux dont le sang a acquis une haute valeur précipitante.

IV

ACTION PRÉCIPITANTE DES EXTRAITS LEUCOCYTAIRES

Voici un type d'expériences qui démontre que les leucocytes représentent les éléments qui élaborent la précipitine.

Soit une série de lapins ayant reçu, chacun, sous la peau 10 c. c. de sérum de cheval non chauffé. Sacrifions chaque jour l'un de ces animaux après lui avoir injecté 24 heures auparavant, 10 c. c. d'émulsion aleuronique dans la cavité péritonéale. Recueillons d'une part l'exsudat péritonéal libre que nous diluons dans un volume égal d'eau physiologique, de l'autre les épais exsudats fibrineux déposés à la surface des viscères : ces dépôts fibrineux [1] sont broyés dans 3 fois leur poids d'eau physiologique et l'extrait traité selon la méthode générale indiquée dans le § II. Comparons ensuite l'action précipitante de chacun de ces liquides à celle du sérum sanguin du même animal ; nous constaterons les faits suivants : Dès le 3e jour qui suit l'inoculation du sérum, parfois plus tôt, l'extrait fibrineux donne, avec le sérum de cheval, un précipité abondant dans la proportion de 1 c. c. sérum pour 1/4 c. c. d'extrait. Cette action précipitante atteint son maximum vers le 5e jour; on voit que son apparition précède de plusieurs jours celle de la précipitine dans le sang. L'extrait de liquide cavitaire donne aussi, et au même moment, un précipité, moins abondant de beaucoup que l'extrait fibrineux. Ce précipité reste généralement emprisonné dans le coagulum transparent dont il a été parlé au début de ce travail.

Quand l'injection d'antigène (sérum de cheval) a été faite directement dans la cavité péritonéale, les exsudats aleuroniques fournissent une proportion de précipitine infiniment plus grande que dans le cas précédent (injection sous-cutanée d'antigène). L'extrait devient alors précipitant dans la proportion de 1/12 (au lieu de 1/4); si nous rapprochons ce fait de cet autre, à savoir que l'injection intrapéritonéale d'antigène s'accompagne d'une élaboration assez faible d'anticorps dans les organes lymphoïdes, il sera légitime d'en conclure qu'il s'agit, dans ce dernier cas, d'une élaboration locale d'anticorps nés dans la cavité péritonéale elle-même.

Ces observations sont à rapprocher de celles de V. Dungern [1] qui constate l'apparition locale d'anticorps, quand il injecte l'antigène (plasma de Maja) dans la chambre antérieure de l'œil de ses animaux.

1. Ces dépôts fibrineux, examinés au microscope 24 heures après l'inoculation d'aleurone, contiennent environ 3 polynucléaires pour 2 mononucléaires : la proportion de ceux-ci va en croissant avec le temps.

2. *Loco citato.*

Ainsi donc, dans l'exudat péritonéal, la précipitine apparaît bien avant d'exister dans le sang. Sont-ce des leucocytes de l'exsudat ou les cellules endothéliales fixes qui l'élaborent ? L'expérience suivante nous permet de nous décider en faveur des leucocytes.

Provoquons, au moyen d'une injection sous-cutanée d'aleurone chez un lapin qui a reçu préalablement du sérum de cheval, un exsudat leucocytaire extra-péritonéal. Il nous sera aisé de constater que l'exsudat présente des propriétés précipitantes 2-3 jours avant l'apparition des précipitines dans le sang.

Cet ensemble d'expériences nous permet d'admettre que *l'élaboration de la précipitine revient, en grande partie du moins, aux leucocytes libres*. Comme, de plus, les organes riches en macrophages constituent les centres principaux où se forme cette substance, il est probable que la *précipitine est sécrétée par les macrophages adultes*. On verra plus loin que cette opinion est corroborée par l'étude des modifications anatomo-pathologiques que subissent les organes lymphoïdes à la suite des injections de sérum.

V

MODIFICATIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES ORGANES LYMPHOÏDES

Trois phénomènes principaux caractérisent les modifications de la formule leucocytaire du sang chez les animaux ayant subi une inoculation de sérum de cheval :

1° Après une leucocytose assez énergique, qui persiste les 2-3 premiers jours après l'injection, le chiffre total des leucocytes décroît, pour tomber à son minimum vers le moment où la précipitine fait son apparition dans le sang. Cette leucopénie porte exclusivement sur les polynucléaires ; au contraire, le nombre absolu des lymphocytes et des grands mononucléaires croît considérablement, pour atteindre trois semaines environ après l'injection 5 et 6 fois le chiffre primitif. Cette mononucléose du sang est signalée chez les enfants inoculés au sérum, par V. Pirquet et Schick [1], dans leur important travail sur la *maladie du sérum*. On verra plus loin que ce phénomène corres-

1. V. PIRQUET u. SCHICK : *Die Serumkrankheit*, Wien (chez Deuticke). 1905, p. 51.

pond à la surproduction de mononucléaires que, dès le début de la maladie, l'on observe dans la rate et les ganglions;

2° Les polynucléaires du sang, 24 heures après l'inoculation de 10 c. c. de sérum, sont tous chargés de petites granulations pseudo-éosinophiles; 6-7 jours plus tard, ces mêmes éléments contiennent presque tous de grosses granulations franchement éosinophiles, cette éosinophilie ne durant d'ailleurs que peu de temps. Au bout de 3-4 semaines, les polynucléaires ont repris leur caractère normal. A l'éosinophilie hématique correspond la production de nombreux myélocytes éosinophiles dans les sinus de la rate;

3° Enfin, 2-3 semaines après l'inoculation du sérum, un certain nombre de myélocytes à granulations basophiles, ainsi que quelques hématies nucléées font leur apparition dans le sang, pour disparaître au bout de 1 à 2 semaines.

Telles sont les principales modifications du sang que l'on observe. Voyons maintenant les changements qui s'opèrent du côté des organes lymphoïdes.

La rate augmente de volume dès le 2e jour qui suit l'inoculation; après 4 jours elle a doublé, au moins, de volume et présente une surface granuleuse, cet aspect étant dû à l'hyperplasie des follicules Malpighiens. Au bout de 4 semaines elle a repris son apparence normale. — Ses ganglions mésentériques augmentent également de volume et deviennent énormes et gorgés de liquide vers le 4e jour.

Quant aux transformations histologiques de ces organes, elles consistent essentiellement en une surproduction énorme de leucocytes mononucléaires; la rate subit, de plus, une transformation myéloïde plus ou moins complète: ce dernier phénomène ne s'observe jamais dans les ganglions lymphatiques.

Dans la *rate* on assiste, dès le 2e jour, à une multiplication énergique des petits mononucléaires qui envahissent les sinus lymphatiques péri-folliculaires, puis les sinus sanguins. Ces éléments se gorgent rapidement de granulations pigmentaires de couleur ocreuse, signalées déjà par Czeczowczka [1]. Ce pigment ocreux ne semble pas résulter de l'englobement, par les macrophages, des produits de l'hémolyse, car on le retrouverait également alors dans les cellules de Kupfer, du foie, ce

1. *Zeitsch. f. Heilkunde*, 1903.

qui n'est pas. Peut-être est-il l'expression de l'englobement de l'antigène et de son élaboration par le protoplasma leucocytaire. Il constitue dans tous les cas un phénomène très précoce et on ne l'observe pas dans les leucocytes du sang.

La transformation myéloïde de la rate est d'autant plus complète que l'on a multiplié les injections de sérum. Elle consiste dans l'accumulation de myélocytes éosinophiles dans les sinus et l'apparition de très nombreux éléments à noyau bourgeonnant (Mégakaryocytes). Après 3 ou 4 inoculations de sérum, les sinus renferment également de nombreux normoblastes.

Cette surproduction de mononucléaires est très énergique aussi dans les *ganglions mésentériques*. Dès le 2e jour on voit de nombreuses karyokinèses dans les espaces médullaires, aussi bien que dans les follicules corticaux ; au bout de 4-5 jours la coupe tout entière présente une nappe continue de mononucléaires jeunes. La production de pigment ocreux est particulièrement abondante dès le 2e jour ; les mononucléaires libres des sinus. les endothelia des espaces lymphatiques de toutes sortes sont remplis de granulations jaunes ; les sinus sont traversés en tous sens par un véritable réseau de prolongements protoplasmiques gorgés du même pigment. Il ne peut guère être question, dans ce cas, de destruction de globules rouges.

Dans la *moelle osseuse* également, on observe une multiplication anormale de tous les éléments cellulaires, en particulier des mégakaryocytes, si bien qu'au bout de 7 jours le tissu aréolaire a presque disparu. Le pigment ocreux manque ici à peu près complètement.

Des modifications très intéressantes sont celles que l'on observe, à la suite d'injections répétées de sérum, dans le système vasculaire intralobulaire *du foie*. On assiste à une sorte de transformation myéloïde de ce système ; les cellules de Kupfer se chargent de grosses granulations éosinophiles ; les capillaires intralobulaires se remplissent de myélocytes éosinophiles à noyau unique ; enfin, çà et là, apparaissent de véritables mégakaryocytes à noyau bourgeonnant, formés, semble-t-il, aux dépens des cellules de Kupfer. Le pigment ocreux manque ; les cellules épithéliales ne présentent pas de modifications appréciables.

Il est, d'ailleurs, plus que probable que ces multiples modifications des organes hémo-lymphatiques ne sont pas dues uniquement à l'action du précipitinogène sérique et que d'autres antigènes, contenus dans le sérum, ont leur part dans ces réactions cellulaires.

VI

PRODUCTION, PAR LES ORGANES LYMPHOÏDES, DE PRÉCIPITINES NON SPÉCIFIQUES POUR LE SÉRUM DE CHEVAL.

J'ai montré plus haut que l'injection d'aleurone dans le péritoine de lapins inoculés préalablement au sérum de cheval semble accroître, dans une certaine mesure, l'activité précipitoformatrice des organes lymphoïdes et que, de plus, les précipitines ainsi obtenues ne sont plus strictement spécifiques pour le sérum de cheval.

On est dès lors autorisé à se demander [1] si une simple injection d'aleurone, pratiquée à un animal normal, qui n'aurait pas subi préalablement l'action du sérum de cheval, ne serait pas capable de provoquer, à elle seule, l'apparition de précipitines dans l'organisme? L'expérience suivante prouve qu'il en est ainsi :

Inoculons dans la cavité péritonéale d'un lapin normal 10 c. c. d'une émulsion d'aleurone stérilisée par tyndallisation à 55°. Sacrifions l'animal au bout de 24 heures après l'avoir saigné à blanc, et comparons l'action précipitante des extraits de rate, de ganglions mésentériques, de moelle osseuse et d'exsudat péritonéal.

Ces extraits sont préparés selon les méthodes indiquées plus haut. Nous constaterons que, dans un grand nombre de cas, ces extraits mélangés à des volumes égaux de sérum de cheval donnent un précipité facilement visible à l'œil nu; ce précipité est peu abondant : il ne se forme plus quand on ajoute l'extrait précipitant en proportions plus faibles (1/2, 1/4).

L'extrait fibrineux s'est montré précipitant	5 fois sur 9
L'extrait de rate........................	7 — — 9
L'extrait de ganglions..................	6 — — 9
L'extrait de moelle osseuse..............	5 — — 9

Ajoutons que toujours la moelle osseuse donne un précipité très faible et qui reste emprisonné dans le coagulum transparent décrit au début de ce travail.

Enfin, deux fois sur 9 cas examinés, le sérum sanguin a fourni un début

1. *C. R. Soc. Biologie*, 1907, t. LXIII, n° 32.

de précipitation sous forme d'un très fin précipité, analysable à la loupe seulement et contenu dans un coagulum tel que celui de la figure (b).

Ainsi donc il semble que, d'une façon générale, une action chimiotactique énergique exercée sur les organes producteurs de leucocytes, peut provoquer la sécrétion d'anticorps précipitants pour les sérums étrangers. — Cette hypothèse est corroborée par l'observation suivante [1] : une infection intercurrente (pasteurellose) survenue chez un lapin qui a reçu une injection de sérum de cheval, hâte l'apparition des précipitines *spécifiques* dans le sang (on les y trouve dès le 2e jour); dans ce dernier cas, la rate, les ganglions sont bourrés de pasteurella.

Les précipitines obtenues consécutivement à l'injection d'aleurone diffèrent de celles que l'on obtient en injectant du sérum de cheval, par les caractères suivants :

a) La brièveté du temps d'incubation. Dès le 1er jour qui suit l'injection, elles apparaissent dans les organes, les extraits leucocytaires et, parfois même, dans le sang. Tandis qu'avec le sérum de cheval il faut 3 jours en moyenne pour qu'elles apparaissent dans les organes, 6-10 jours pour qu'on les retrouve dans le sang ;

b) Elles ne sont pas spécifiques et ont une action précipitante, par ordre d'énergie décroissante, sur les sérums de cheval, de chèvre, de cobaye, de chien (très faible sur ce dernier) ;

c) La quantité produite est relativement faible. Il faut faire des mélanges à volumes égaux pour obtenir des résultats positifs. De plus, il est très rare qu'elles passent dans le sang. Ces expériences prouvent que le lieu de formation des précipitines normales est le même que pour les précipitines spécifiques.

VII

Voici maintenant les conclusions générales qui résultent de ces recherches :

Il existe dans l'organisme normal du lapin de petites quantités d'anticorps précipitants pour les sérums étrangers. Pour provoquer l'élaboration de ces précipitines en quantités notables, il suffit d'exciter énergiquement l'activité des organes ou des

1. *C. R. Soc. Biologie*, 1907, t. LXIII, no 29.

éléments cellulaires libres qui constituent leurs lieux de formation : une infection, une injection d'aleurone dans la cavité péritonéale suffisent souvent pour atteindre ce résultat. Ces précipitines ne présentent aucun caractère de spécificité et apparaissent au bout de peu d'heures dans les organes précipito-formateurs qui sont avant tout la rate, puis les ganglions (mésentériques), enfin la moelle des os. Les cellules d'où elles dérivent sont les leucocytes, probablement les mononucléaires. Les précipitines normales n'existent jamais qu'en proportion assez faible dans les extraits d'organes, dont le titre précipitant ne dépasse guère 1 ; il en passe parfois des traces dans le sang.

Lorsque l'on injecte à un animal un antigène tel que le sérum de cheval, les précipitines formées ont le caractère de la spécificité qui manque dans le cas précédent. Elles demandent, pour être élaborées, un temps d'incubation plus long et la quantité secrétée est infiniment plus considérable.

Ces précipitines spécifiques ont la même origine que les autres; elles apparaissent, d'une manière précoce, dans les organes lymphoïdes, en particulier la rate, où on les rencontre plusieurs jours avant qu'elles ne fassent leur apparition dans le sang. Cette élaboration dure peu de temps et, lorsque le sang devient précipitant, les organes précipito-formateurs ne contiennent déjà presque plus d'anticorps.

La richesse en mononucléaires des exsudats précipitants, la présence des précipitines dans les organes riches en macrophages (rate, ganglions), l'énorme surproduction de mononucléaires que l'on constate dans ces mêmes organes à la suite d'une injection de sérum, la mononucléose du sang, tous ces faits plaident en faveur de l'hypothèse que, parmi les leucocytes, c'est aux mononucléaires qu'est dévolue l'élaboration de ces anticorps.

Insistons enfin sur ce fait que l'injection sous-cutanée d'antigène donne lieu à une production générale d'anticorps beaucoup plus abondante que l'injection intrapéritonéale. Dans ce dernier cas on constate surtout une production locale de précipitines, qui présentent d'ailleurs un caractère nettement spécifique.

12 novembre 1907.

L'ARSENIC DANS LA SYPHILIS

Par PAUL SALMON

Dans deux notes antérieures[1], nous avons affirmé que l'arsenic est « médicament spécifique de la véroie » et nous avons ainsi précisé le mode de traitement : « des doses de 50 centigr. répétées tous les deux jours pendant deux à trois semaines. »

Depuis, cette nouvelle méthode a été soumise au contrôle des syphiligraphes. Bien que quelques mois seulement se soient écoulés depuis l'introduction du traitement arsenical dans la cure de la syphilis, les résultats obtenus méritent d'être recueillis dans un travail d'ensemble.

Il est utile, pour assigner au médicament arsenic une place dans la thérapie antisyphilitique, de le comparer au médicament mercure. Tout le monde admet que l'hydrargyre est doué d'un pouvoir curatif incontestable et par contre d'un pouvoir préventif discutable ; l'hydrargyre guérit les lésions, non la maladie. La syphilis, maladie chronique, exige un traitement chronique, d'où résulte un danger : l'intoxication mercurielle. Aussi la mercurialisation ne représente nullement un traitement idéal. Nous écrivions[2], en 1903 : « En l'absence d'un traitement préventif, curatif, rapide et définitif de l'infection syphilitique, le besoin se fait sentir, soit d'un virus vaccin, soit d'un traitement sérothérapique. »

Or les recherches de vaccination et de sérothérapie paraissent jusqu'à présent hérissées de difficultés. Nous avions eu l'avantage de suivre de près les travaux de Metchnikoff et de Roux concernant la syphilis expérimentale ; les expériences faites avec du virus syphilitique sur la race simienne n'ayant pas donné un résultat immédiatement pratique, nous avons pensé à un autre procédé thérapeutique, à la chimiothérapie.

La chimiothérapie était naturellement indiquée dans la syphilis, affection déjà reconnue justiciable de deux produits

1. Paul Salmon, L'arsenic dans la syphilis, *Soc. de Biologie*, 16 mars et 13 avril 1907.

2. La syphilis et la bactériologie. Journal *La Syphilis*, oct. 1903.

chimiques : mercure et iodure. Ce métal et ce métalloïde avaient été appliqués au traitement de la vérole par simple empirisme ; aucune analogie chimique ne permettait en effet de rapprocher l'iodure et l'hydrargyre.

Depuis longtemps, l'arsenic avait été utilisé contre la syphilis, d'ailleurs sans grand résultat. C'est cependant à l'arsenic que je me suis adressé, mais à l'arsenic sous une forme particulière.

Parmi les composés arsenicaux, l'atoxyl se recommandait par l'usage qui en avait été fait chez l'homme et sur une grande échelle. Profitant de l'expérience des prédécesseurs, de celle de Koch en particulier dans la maladie du sommeil, nous évitions ainsi une longue phase de tâtonnements.

Si l'on réfléchit aux troubles occasionnés par une piqûre de calomel ou d'huile grise, on ne peut qu'admirer l'heureuse initiative de Scarenzio [1] et de Lang qui ont osé injecter dans les tissus ces préparations mercurielles redoutables : n'a-t-on pas cité des cas de mort? Or, si le mercure a mauvaise réputation, l'arsenic ne lui cède en rien sur ce point. Bien que protégé par la connaissance des effets de l'atoxyl, médicament en général bien supporté, nous étions relativement anxieux au cours de nos premières injections, quoique agissant avec toute la prudence possible.

En somme, si nous avons employé de préférence l'atoxyl, c'est parce que ce produit était reconnu d'un maniement facile et d'une faible toxicité. Mais nous n'avons été guidé qu'accessoirement par l'analogie qui relierait spirilles et trypanosomes. « L'hypothèse de la nature protozoaire des spirilles pathogènes demande à être vérifiée, » écrivait récemment Levaditi [2].

Certains médicaments qui ont une action sur les spirilles sont sans effet sur les trypanosomes : à preuve le mercure qui ne réussit pas dans le traitement des trypanosomiases et cepen-

1. C'est à une date relativement éloignée de nous et de la période antiseptique, en 1864, que Scarenzio créa la méthode des injections mercurielles insolubles. « Avec courage et persévérance, il en poursuivit l'application, malgré ses inconvénients, ses échecs ou ses conséquences souvent désastreuses. » (Mauriac.) L'audace thérapeutique de Scarenzio ne fut admise en France qu'en 1878, après les travaux de Jullien.

2. Levaditi, Les spirochètes pathogènes, *Congrès d'hygiène de Berlin*, sept. 1907.

dant guérit plusieurs spirilloses : syphilis, fièvre récurrente, pian, et peut-être la spirillose des poules[1]. Ces quatre infections sont en outre heureusement traitées par l'arsenic : la fièvre récurrente, d'après Glaubermann[2] ; le pian selon Neisser et la spirillose des poules, comme l'a démontré Uhlenhuth[3]. Ce savant, se basant sur la prévention et la guérison de cette spirillose par l'atoxyl, a proposé, par anticipation, ce produit comme remède de la syphilis et de la tick fever. Ces prévisions ont été exactement confirmées à propos de la syphilis, mais non pour la tick fever (Vassal)[4].

Avant nous, Lassar se basant sur les publications de Ehrlich concernant la chimiothérapie des trypanosomiases et, d'autre part, sur les analogies entre les spirilles et les protozoaires, Lassar avait « traité sur une grande échelle la syphilis par l'atoxyl » ; mais ce syphiligraphe aboutit à une conclusion négative[5]. Plus tard, après nos publications, il reconnut que ses insuccès étaient dus à l'emploi de doses insuffisantes (doses de 20 centigr.).

On a fait remarquer que, bien avant la découverte du rôle curatif de l'arsenic dans la syphilis, ce métalloïde avait été employé comme antisyphilitique ; il existe en effet nombre d'auteurs qui ont publié avoir utilisé ce médicament avec avantage chez les malades syphilitiques.

En 1810, Horn, Vogel de Rostock, Zugenbühler de Glarus recommandent l'arsenic en cas de syphilis invétérée. En 1820, Proksch cite, dans le tome II de son *Traité des maladies vénériennes*, Baer et Colhoun qui employaient avec succès l'arsenic dans la syphilis ; Colhoun prescrivait la liqueur de Fowler.

1. Nous avons traité des poules par injections de biiodure d'hydrargyre sans résultat nettement favorable.

2. GLAUBERMANN, Observations cliniques sur l'action de l'atoxyl dans le cours de la fièvre récurrente, *Compte rendu du Congrès des médecins réunis en mémoire de Pirogoff*, c. c. *Petersbourg*, 1907, p. 32.

3. UHLENHUTH, GROSS et BICKEL, Recherches sur l'action de l'atoxyl sur les trypanosomes et les spirochètes. *Deutsche medic. Woch.* 24 janvier 1907.

4. VASSAL, Action des couleurs de benzidine sur le spirille de la « Tick-fever (*Sp. Duttoni*), *C. R. Soc. Biologie*, 9 mars 1907. VASSAL cite BREINL et KINGHORN qui ont traité sans succès la maladie humaine par l'atoxyl.

5. LASSAR, *Société médicale de Berlin*, 13 février 1907, et LASSAR, *Berliner, Klin. Woch.* 22 avril 1907, termine sa lettre ainsi : « Pour le moment donc, il faut dire que l'atoxyl ne fait rien dans la syphilis. »

6. Auteurs cités par BLOCH, *Deutsche Aerzte Zeitung*, nov. 1905, et *Berliner, Klin, Woch.* 1907, XXXIII, p. 1061. *Le traitement arsenical de la syphilis.*

Vers le milieu du XIXe siècle, la liqueur de Donovan était préconisée énergiquement par Ditterich. Ricord utilisait cette composition[1]. La liqueur de Donovan est très intéressante parce que sa formule associe trois antisyphilitiques : mercure, iode et arsenic.

En 1855, Gaskoin rapporte deux cas de syphilis pustuleuses réfractaires au mercure et à l'iode qui furent guéris par l'usage interne de l'arsenic.

Théodor Clemens recommande l'emploi du bromure d'arsenic après le traitement mercuriel.

Mauriac prescrit l'arsenic « dans les syphilis secondaires qui dépassent la durée ordinaire », sous forme d'arséniate de soude ou de fer.

En 1905, Iwan Bloch déclare « que l'arsenic déploie une action incontestable sur d'autres maladies provoquées par des agents protozaires, tels que les fièvres impaludiques, le cancer, et que pour cette raison il possède peut-être des qualités vénéneuses par le *spirochaete pallida* ». Enfin, ces temps-ci, on a préconisé les cacodylates et le salicylarsinate de mercure où l'arsenic est associé à l'hydrargyre.

En réalité, aucun de ces auteurs n'avait utilisé l'arsenic comme antisyphilitique, mais comme « dépuratif », comme « reconstituant », comme « adjuvant de la cure mercurielle » ; du reste, les doses employées étaient trop minimes pour agir, surtout par voie buccale ; aussi déniait-on à ce médicament une valeur spécifique et dans les traités classiques de syphiligraphie, l'arsenic était passé sous silence.

* * *

Bien que nos premières recherches aient été faites seulement avec l'atoxyl, nous avons intitulé nos publications : l'*arsenic dans la syphilis*. C'est l'arsenic en effet, non l'aniline,

1. « J'ai vu guérir par l'arsenic, par la liqueur de Donovan, par le platine, l'or, l'argent, vraie monnaie du mercure. » DIDAY, *La pratique des maladies vénériennes*, 3e édition, p. 436.

« L'association de l'arsenic à l'iodure de potassium dans la même formule favorise la tolérance de ce dernier. Ricord mettait dans sa solution iodo-arsenicale 5 milligrammes environ d'arséniate de soude pour 1 gramme d'iodure de potassium. D'autres se bornent à 1 milligramme par gramme d'iodure. On peut ajouter aussi à la solution iodurée autant de gouttes de liqueur de Fowler qu'elle contient de grammes d'iodure de potassium. » MAURIAC, *Traitement de la syphilis*. p. 296.

qui constitue la partie active de ce composé. De même que les trypanosomiases sont modifiées par diverses préparations à base d'arsenic, soit atoxyl, soit arséniate de soude, acide arsénieux, etc., de même on peut admettre, *a priori*, que divers composés arsenicaux organiques ou inorganiques auront, dans la syphilis, une action analogue à celle de l'atoxyl.

Déjà un certain nombre d'essais ont été effectués avec d'autres sels arsenicaux. Rosenthal [1] dans un cas de syphilis grave, a employé avec succès l'acide arsénieux (2 milligrammes d'arsenic par jour en injections, puis doses croissantes).

Mescherski [2] injecte l'arséniate de soude à 1 0/0 en l'associant à une médication iodurée interne. Bettmann[3] utilise avec succès l'arséniate de soude à 1 0/0 en injections. Milian [4] « fait, sans inconvénient et sans produire ni douleur ni nodosités, des injections de 0,03 à 0,05 centigr. d'arséniate de soude avec plein succès thérapeutique ». Selon Neisser [5], on obtient chez le singe de moins bons effets avec l'acide arsénieux qu'avec l'atoxyl.

Parmi les combinaisons organiques, les cacodylates et méthylarsinates ont été employés par divers syphiligraphes [6], mais l'absence de travaux sérieux sur leur pouvoir antisyphilitique ne nous permet actuellement aucune conclusion [7].

Bien que nous ayons entrepris divers essais thérapeutiques

1. Rosenthal, *Société de médecine de Berlin*, 3 juillet 1907.

2. Mescherski, Congrès des médecins russes 1907. Analysé dans *Bulletin médical*, 6 juillet 1907.

3. Bettmann, Le traitement arsenical de la syphilis, *Münchener med. Woch.* 24 sept. 1907,

4. Milian, Atoxyl, arséniate de soude et syphilis, *Revue des hôpitaux*, sept. 1907.

5. Neisser, L'atoxyl dans la syphilis et la framboesie, *Deutsche Med. Woch.* 19 sept. 1907.

6. Hallopeau a donné le cacodylate de soude et l'arrhénal « sans résultats ». Sur le traitement de la syphilis par l'anilarsinate de soude. *La Clinique*, 5 juillet 1907.

Scherber compare la solution de Fowler, les pilules asiatiques et les injections d'arséniate ou de cacodylate de soude, et conclut que l'atoxyl a une action plus manifeste dans la syphilis.

7. Cependant l'expérimentation ne paraît nullement favorable à l'action de ces composés arsenicaux. Un macaque bonnet chinois, du poids de 1 kil. 600, reçoit 4 doses de 10 centigrammes de méthylarsinate de soude, les 4e, 6e, 10e et 13e jours après l'inoculation du virus; la syphilis se développe malgré ce traitement intensif. Nous rappellerons qu'une seule dose de 10 centigrammes d'atoxyl aurait suffi pour empêcher l'éclosion de la syphilis chez ce singe.

Nous avons essayé, sans succès (chez l'animal), d'utiliser l'iodure d'arsenic, le trisulfure d'arsenic ou orpiment et l'arsenic colloïdal (trisulfure).

sur l'homme et les animaux avec quelques-unes des combinaisons de l'arsenic, nous ne nous occuperons, dans ce mémoire, que de l'atoxyl.

***

L'atoxyl serait identique à « l'anilarsinate de soude » découvert par Béchamp en 1863.

L'atoxyl serait, d'après sa formule chimique, l'anilide de l'acide arsénique, (Béchamp : De l'action de la chaleur sur l'arséniate d'aniline et de la formation d'un anilide de l'acide arsénique. *C. R. Académie des Sciences*, 1863), l'anilide de l'acide méta-arsénique (*Vereinigte Chemische Werke*, de Charlottembourg), le sel monosodique de l'anilide de l'acide ortho-arsénique (Fourneau, *Journal de Pharmacie*, 1er avril 1907). Pour Bertheim[1], ce serait le sel monosodique de l'acide para-amino-phényl arsénique; cette formule a été confirmée par les essais de Lanzenberg (travail inédit) qui a réussi à diazoter l'atoxyl, prouvant ainsi que la fonction amine NH^2 est libre. La formule de l'atoxyl serait donc :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} NH^2 \\ AsO \end{matrix} < \begin{matrix} OH \\ ONa \end{matrix} + 3H^2O$$

et son nom : para-amino-phényl-arsiniate de sodium.

Hallopeau propose de l'appeler : anilarsinate de soude, d'après Béchamp. Gabriel Bertrand accepte, soit ce nom, soit plutôt la dénomination d'anilarséniate de sodium, comme rappellant suffisamment la constitution du produit obtenu par la combinaison de l'aniline avec l'acide arsénique.

L'atoxyl contiendrait 37,69 0/0 d'arsenic et, selon Bertheim, 24,10 0/0.

Nous nous sommes servi de solutions chauffées pendant deux minutes au bain-marie à l'ébullition. Par ce procédé, il est aisé pour le médecin de préparer lui-même ses solutions injectables.

Nous n'avons pas remarqué que les liquides stérilisés par tyndallisation ou filtrés à froid se soient montrés moins toxiques que les solutions chauffées à près de 100°.

On devra rejeter les solutions impures, contenant les moi-

1. P. Ehrlich et A. Bertheim, Sur la chimie de l'atoxyl, *Pharmaceutische Zeitung*, LII, et *Travaux de la Société allemande de chimie*. Année 40. Vol. 12.

sissures[1] qui se développent rapidement dans les préparations arsenicales, la liqueur de Fowler par exemple.

On ne doit se servir que de solutions parfaitement claires et limpides. La teinte jaunâtre ou rouge prouve une dissociation due à un chauffage prolongé, ou provoquée par la lumière.

L'anilarsinate se présente sous l'aspect d'une poudre blanche, amorphe, contenant en réalité quelques fins cristaux[2] visibles au microscope. Ces temps-ci, on a préparé l'anilarsinate en cristaux quadrangulaires. Nous avons montré[3] qu'il n'existait que des différences légères, au point de vue physiologique, entre le produit amorphe et le produit cristallisé; le sel cristallisé présente surtout un intérêt pharmaceutique.

On utilisera des solutions à 10 ou 15 0/0. Les injections peuvent être faites, soit sous-cutanées, soit de préférence intramusculaires.

L'atoxyl a été utilisé en pommade et frictions par Hoffmann, et par voie buccale, avec de bons résultats selon Balzer. Mais il est évident que le procédé des injections est supérieur à tout autre mode d'introduction de l'arsenic dans l'organisme, voie cutanée ou voie digestive. L'expérimentation le démontre :

Un macaque javanais du poids de 1kg,800 prend, par la bouche, trois doses d'atoxyl (10, 5 et 5 centigrammes), les 10e, 11e et 12e jours après l'inoculation de la syphilis. Un deuxième macaque javanais, du poids de 2 kilos, reçoit les mêmes doses aux mêmes jours, mais en injections sous-cutanées : celui-ci reste indemne, tandis que le singe traité par ingestion contracte la syphilis.

***

Cliniquement, l'action de l'arsenic est comparable à celle du mercure; l'atoxyl guérit les lésions que guérit l'hydrargyre; « c'est le troisième spécifique de la vérole. » (Hallopeau[4].)

Ces affirmations pourraient nous dispenser de nous étendre

1. Sur de l'agar contenant 0,1 d'atoxyl, on constate au bout de 24 heures une odeur alliacée et le développement du *penicilium brevicaule*, Oplatek. De l'emploi de l'atoxyl, *Archiv. f. dermat. u. syph.*, t. LXXXI, p. 197.

2. Béchamp obtenait « le sel de soude, $C^{16}H^{7}NaAsNO^{6}$, HO, cristallisé en prismes droits rectangulaires transparents, fort solubles ».

3. Paul Salmon, L'anilarsinate de soude dans la syphilis, *Académie des sciences*, octobre 1907.

4. Hallopeau, Sur un danger de la médication par l'atoxyl, *Académie de médecine*, 9 juillet 1907.

longuement sur les processus bien connus de guérison des accidents syphilitiques, d'autant que les syphiligraphes qui ont traité leurs malades avec l'anilarsinate de soude ont reconnu la haute valeur antisyphilitique de ce médicament. Le premier en France, Hallopeau [1] apportait à la cause de l'anilarsinate l'appui de sa grande expérience; en même temps Lassar [2], Hoffmann [3] publiaient leurs impressions favorables; puis d'autres : Lesser [4], Milian, Scherber [5], Duhot [6], etc., ajoutaient des faits nouveaux.

Quelques syphiligraphes, cependant, se refusaient à admettre qu'un remède autre que le mercure méritât le qualificatif de « spécifique de la vérole »; pour eux, seul l'hydrargyre était capable de détruire les spirilles.

Or rien de plus évident que l'action spécifique de l'arsenic; elle saute aux yeux. Ainsi, Renon [7] montre à ses élèves un malade porteur de syphilides papuleuses; après quelques jours de traitement par l'atoxyl, les papules ont disparu. La papule syphilitique constitue en effet le réactif le plus favorable pour étudier la puissance curative d'une médication spécifique.

Action constante sur les syphilômes, primaires, secondaires ou tertiaires, action énergique parfois plus rapide que celle du mercure (Hallopeau), aussi puissante qu'une injection de calomel (Hoffmann), « parfois avec une rapidité qui dépasse même celle obtenue avec le calomel » (Duhot [8]); tout ceci plaide en faveur du droit de l'arsenic à porter, comme l'hydrargyre, le titre de « spécifique ».

La preuve la plus importante de la valeur spécifique de l'arsenic nous est fournie par l'expérimentation. Metchnikoff [9]

1. Hallopeau, Traitement de la syphilis par l'anilarsinate de soude, *Académie de médecine*, 4 juin 1907.
2. Lassar. L'atoxyl dans la syphilis. *Berliner Klin. Woch.* 3 juin 1907.
3. Uhlenuth, Hoffmann et Roscher, Recherches sur l'effet de l'atoxyl dans la syphilis, *Deutsche med. Woch.* 30 mai 1907.
4. Lesser, Le traitement de la syphilis d'après les nouvelles recherches. *Deutsche med. Woch.* 8 août 1907.
5. Scherber. Le traitement de la syphilis par l'atoxyl, *Wiener Klin. Woch.* 26 sept. 1907.
6. Duhot, Présentation de quelques malades syphilitiques en traitement par l'atoxyl. *Annales de la policlinique*. Bruxelles, août 1907.
7. Renon, Des indications thérapeutiques, Leçon du 16 mai 1907, *Journal des Praticiens*.
8. Duhot. Le traitement de la syphilis par l'atoxyl. *La Clinique*. 6 déc. 1907.
9. Metchnikoff, Sur la prophylaxie de la syphilis, *Congrès de Berlin* et *Annales de l'Institut Pasteur*, oct. 1907. « Une dose de 5 cent. pour un singe de plus de 2 kilos suffit pour empêcher l'éclosion de la syphilis. »

a fait avorter la syphilis chez le singe avec une dose de 33 milligrammes d'atoxyl par kilo d'animal, ceci pendant les 15 jours qui suivent l'inoculation. Uhlenhuth a réalisé une expérience analogue sur la race simienne et en outre chez les lapins atteints de kératite syphilitique. Neisser a confirmé ces résultats.

Dans cette expérience, le sel arsenical détruit complètement les spirilles : de plus, le singe n'acquiert aucune immunité puisque, réinoculé, il contracte la syphilis [1]. On peut donc, pendant la période d'incubation, avant l'apparition du syphilôme initial, réaliser avec l'atoxyl le traitement préventif véritable de l'infection.

Quand le syphilôme initial, le chancre, sera apparu, il sera trop tard pour faire avorter la maladie.

A ce moment, en effet, l'infection syphilitique semble devenue définitive, chronique, et les doses de médicament nécessaires devront être longtemps renouvelées ; c'est ce que montre l'étude du traitement de la syphilis devenue constitutionnelle.

***

Toutes les syphilides réagissent de même façon sous l'influence de la médication atoxylique. Il est d'usage cependant de décrire le traitement des accidents de la vérole suivant leur ordre d'apparition. Commençons par le chancre.

Le chancre se cicatrise très rapidement. Chez le singe non anthropoïde, l'accident initial, syphilis atténuée, est curable avec une seule dose d'anilarsinate ; la dose thérapeutique peut être de 5 centigrammes par kilo (comme pour les trypanosomiases) et s'élever à 10 centigrammes. La lésion apparaît modifiée déjà après 24 heures, puis s'efface à peu près complètement, parfois en moins de 4 jours.

Chez l'homme, le même phénomène se produit, le syphilôme initial se cicatrise aussi vite que possible. Voici quelques observations :

Da.... Chancre de la verge, datant de 12 jours environ, et mesurant 8 millimètres de large. Cicatrisation en 5 jours, après 2 injections de 75 centigrammes d'atoxyl.

1. Dans la spirillose des poules, au contraire, Uhlenhuth, Levaditi ont montré que les poules traitées préventivement par l'atoxyl avaient acquis l'immunité contre une seconde infection. Si le même phénomène avait pu être reproduit avec l'infection syphilitique, on aurait pu réaliser en quelque sorte la vaccination antisyphilitique en deux temps : inoculation du virus suivie d'injection préventive.

Pe... Chancre de la verge, mesurant 6 m/m de diamètre, et âgé de 12 jours; après 3 injections d'atoxyl (2gr,50 en tout), après 5 jours, le chancre est cicatrisé.

Ch.... Chancre de la verge, de 9 m/m de diamètre; ulcération fermée en 12 jours, avec 6 injections de 50 centigrammes d'atoxyl.

To.... Deux chancres de la verge depuis près de 2 mois. L'un des ulcères mesure 2 centimètres de largeur; le malade a pris antérieurement 8 pilules de protoiodure. Après 6 injections d'atoxyl (4 à 75 centigrammes et 2 à 50 centigrammes), après 14 jours, les plaies chancreuses sont totalement cicatrisées.

Dans ces observations, le temps de cicatrisation est réduit au minimum, et l'action modificatrice de l'arsenic très manifeste. Bien que constante, cette action curatrice pourrait être attribuée à la tendance spontanée des chancres à la guérison. Mais l'action spécifique de l'atoxyl est indéniable quand il s'agit de chancres rebelles, un chancre végétant du gland par exemple que nous avons observé, et surtout les ulcérations phagédéniques :

De Ce... Chancre phagédénique de la verge sans tendance à la cicatrisation depuis plus de 5 mois; malgré un traitement par les pilules de protoiodure, roséole et syphilides papuleuses. Le 5e jour, après 3 injections de 90 centigrammes d'atoxyl, certaines papules effacées, le chancre est devenu moins douloureux, l'œdème périchancreux a disparu; le 14e jour, il ne subsiste que la trace des syphilides papuleuses, le chancre est en voie de guérison rapide. Le 30e jour, le chancre est cicatrisé. Le temps relativement long pour la réparation des tissus s'explique par les dimensions du chancre : 4 centimètres de diamètre. Le traitement correspond à 6gr,85 d'atoxyl.

* * *

Après le chancre se déroulent les divers incidents provoqués par l'infection syphilitique et qui caractérisent la période secondaire de la vérole.

Est-il possible, par le traitement atoxylique, d'empêcher la production de ces incidents, de réaliser ce que l'on a appelé « le traitement abortif » (Duhot) ou le traitement préventif [1] de la syphilis?

Nous avons actuellement en observation quelques malades chez qui le traitement arsenical semble avoir réalisé ce desideratum : la suppression des accidents secondaires. Exemple :

Ra.... chancre datant de 10 jours et mesurant 6 millimètres, guérison

1. Il s'agit en réalité d'un traitement curatif à longue échéance, d'une guérison prolongée; le traitement préventif véritable de la syphilis n'est réalisable que pendant la période d'incubation de l'infection, avant le chancre.

en 9 jours après 4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl (2 ou 3 injections auraient suffi pour cicatriser ce chancre). On continue une injection par semaine; après 61 jours de traitement, ni roséole, ni plaques muqueuses.

Actuellement, la durée relativement courte de nos observations ne nous permet pas de conclure que l'arsenic peut jouer le rôle de médicament abortif de la syphilis. Mais nous pouvons déjà faire remarquer que les résultats favorables ont été observés chez des individus porteurs de chancres jeunes âgés de 10 à 12 jours environ. De même, à propos du mercure, Duhot a insisté sur l'importance du traitement précoce de la syphilis; cet auteur réalise « le traitement abortif de la syphilis » en pratiquant les injections d'huile grise sur des « malades atteints de chancres depuis moins de 15 jours ».

Ce traitement hydrargyrique prétendu abortif doit être continué au moins pendant 3 années consécutives; de même il sera nécessaire avec l'arsenic de combattre l'infection pendant une longue période.

Si on cesse de soumettre le malade à l'imprégnation arsenicale, la syphilis, spirillose chronique à rechutes, manifeste des retours offensifs et parfois des récidives très intenses.

Ainsi, chez le singe macaque, les accidents, disparus après une seule injection d'atoxyl, peuvent réapparaître et l'on voit se reproduire au point d'inoculation les squames, les croûtes, l'infiltration du derme, témoins d'une recrudescence d'activité des parasites.

Chez l'homme dont le chancre est rapidement fermé grâce au traitement arsenical, on observe, après interruption de la médication spécifique, la récidive sur place du syphilôme :

Co... Chancre avec œdème considérable mesurant 3 centimètres de longueur. Ulcère cicatrisé après 5 injections de 75 centigrammes d'atoxyl. On cesse le traitement; 20 jours après, le chancre s'ouvre de nouveau.

Il est relativement facile, en prolongeant le traitement arsenical, de maintenir la cicatrisation du chancre; il est plus difficile d'éviter la production des accidents secondaires. Parmi ces accidents, chez les malades traités par l'arsenic ou par le mercure, la roséole fait le plus souvent défaut, les éruptions papuleuses apparaissent quelquefois; mais par contre les plaques muqueuses constituent l'accident le plus fréquent, le plus récidivant.

L'action de l'atoxyl sur la roséole ne présente qu'un intérêt

accessoire; l'action de ce sel sur les syphilides papuleuses est au contraire importante et très caractéristique. Déjà après 24 heures on constate une différence dans la teinte et la saillie de ces éléments. Bientôt, la coloration brune, puis rougeâtre, pâlit nettement, la papule s'aplatit, et après huit jours en moyenne le syphilôme est pour ainsi dire guéri.

Le .... Papules volumineuses généralisées, guérison apparente des lésions, en moins de 14 jours (6 injections de 50 centigrammes d'atoxyl).

Mo .... Syphilis de 2 mois environ, traitée par 12 pilules de protoiodure d'Hg., la dernière il y a 7 jours; papules très saillantes. En 7 jours, les papules sont guéries sur le tronc et les bras; en 16 jours, les papules de la face ont disparu. (En tout 8 injections de 50 centigrammes d'atoxyl.)

Ch .... Syphilis de 4 mois non traitée; syphilides de la paume de la main; guérison en 9 jours. (4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl.)

Ba ..... Syphilis datant de 2 ans, traitée antérieurement par injections d'huile grise et d'énésol; syphilides psoriasiformes circinées de la paume de la main, disparues en 12 jours après injections de 3gr,50 d'atoxyl.

A la période secondaire se rattache la céphalée des syphilitiques, vespérale, violente. Les malades signalent l'action bienfaisante de l'atoxyl 12 heures après la première injection.

Les syphilides des muqueuses, bouche et organes génitaux, présentent une certaine résistance au traitement, probablement pour des raisons locales, infection secondaire...; cependant l'atoxyl manifeste son action curative sur les plaques muqueuses, parfois avec une très grande rapidité. En général, après 48 heures, les phénomènes de réaction inflammatoire s'amendent; la dysphagie, conséquence de l'angine syphilitique, disparaît, et la déglutition redevient normale. La cicatrisation de ces syphilides est la règle, sauf pour quelques plaques exubérantes ou occupant une surface étendue.

Ba.... Syphilis de 3 mois, non traitée par Hg. Papules, plaques muqueuses de la gorge et de la lèvre inférieure; après 2 jours et une seule injection de 60 centigrammes d'atoxyl, le malade avale plus facilement. Sur la lèvre, une ulcération mesurant 1c/m,2 est réduite à 6 milimètres après 6 jours de traitement, et guérie en moins de 11 jours (traitement total, 4gr,30 d'atoxyl).

Nous n'avons pas eu l'occasion, de traiter des malades atteints d'iritis : cette affection oculaire est très intéressante pour le thérapeute parce qu'il s'agit là de syphilômes absolu-

ment purs, non infectés secondairement. Nous signalerons les cas observés par Darier [1] et par Bargy [2].

***

Les lésions tertiaires, lésions pauvres en matière virulente et en spirilles, se montrent aisément influencées non seulement par le mercure, mais par l'iodure (médicament sans influence notable sur les accidents secondaires) et en outre par l'arsenic. Ostéopériostites, gommes et tubercules se modifient régulièrement sous l'influence de la médication spécifique :

Jea ... Syphilis datant de trois ans; le malade a toujours pris des pilules mercurielles ; il a cessé depuis 8 jours. Sur le dos, syphilides tuberculo-ulcéreuses; un ulcère mesure 2 centimètres de large. Cicatrisation des ulcérations en 9 jours (4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl).

Du ... Syphilis de 25 ans. Glossite et gommes guéries il y a un an par iodure et pilules mercurielles. Il existe une syphilide ulcéreuse de la face mesurant 2cm1/2 de diamètre. La plaie est fermée après 5 injections d'atoxyl (3gr,60 en tout). Cette malade, en état de cachexie cancéreuse et albuminurique, a bien supporté le traitement arsenical.

Parmi les lésions tertiaires, à côté de syphilides gommeuses ou tuberculeuses qui ont peu de tendance à récidiver, il existe une variété de lésions résistant au traitement et particulièrement récidivantes : nous voulons parler des diverses variétés de glossites; il semble que les spirilles ne puissent être détruits et restent indéfiniment actifs dans la langue.

Cependant l'atoxyl peut amener non seulement la résorption de l'infiltration profonde dans cet organe, la cicatrisation des ulcères et fissures, mais encore l'effacement de certaines plaques leucoplasiques ; la disparition de la leucoplasie ne se produit que dans les cas favorables où les placards sont peu épais et comme pelliculaires.

Vi ... Syphilis de 11 ans; diabète et psoriasis, glossite hypertrophique : langue creusée de fissures douloureuses et de cicatrices, plaques de leucoplasie buccale. Traité antérieurement par sirop de Gibert, et piqûres d'huile grise ; depuis 2 mois a cessé le traitement. Première série du 23 avril au 7 mai : 5 injections d'atoxyl (4 grammes en tout); la douleur, pendant la mastication, disparaît rapidement. Le 24 juin, on constate que l'état de la langue s'est nettement amélioré, certaines plaques de leucoplasie n'existent

1. Darier, De l'atoxyl dans la syphilis oculaire, *La Clinique ophtalmologique*, 10 juin 1907.

2. Bargy, Contribution à l'étude thérapeutique de l'atoxyl dans la syphilis oculaire. Iritis syphilitique jugulée en 5 jours, *La Clinique ophtalmologique*, 25 octobre 1907.

plus (on avait fait un croquis des lésions linguales). Du 24 juin au 10 juillet deuxième série : 6 injections de 50 centigrammes d'atoxyl. Le 18 juillet, les taches de leucoplasie de la lèvre inférieure sont effacées, par contre une plaque leucoplasique épaisse persiste sur la face muqueuse de la joue; on ne constate aucune action de l'atoxyl sur le psoriasis. Troisième série : les 16, 20 et 22 juillet, injections de 50 centigrammes d'atoxyl. Le 28 août, récidive de la syphilis linguale et nouvelle série d'injections d'atoxyl. En résumé, amélioration rapide d'une syphilis linguale particulièrement grave.

Ch .. Syphilis datant de 22 ans; syphilis récidivante de la langue depuis 17 ans, malgré un traitement mercuriel (liqueur de Van Swieten, pilules, 100 piqûres de benzoate d'Hg., 30 de biiodure d'Hg.). Diabète. Sur la langue, ulcérations et taches de leucoplasie. Après traitement atoxylique, guérison des ulcérations, diminution de grandeur des taches de leucoplasie.

La .... Syphilis datant de 20 ans; leucoplasie superficielle de la langue. 5 injections de 50 centigrammes d'atoxyl en 11 jours, repos de 8 jours; deuxième série de 5 injections de 50 centigrammes en 14 jours : leucoplasie disparue.

*
* *

Les syphiligraphes qui ont utilisé l'atoxyl ont fait remarquer que ce médicament était particulièrement indiqué dans les syphilis graves, les syphilis malignes précoces et autre formes de la vérole où il semble que l'arsenic doive jouer un rôle reconstituant. Lesser, Duhot[1], Heuck[2], Hoffmann, Bettmann[3], etc., ont signalé des cas qui rentrent dans cette catégorie de faits. Parmi nos observations nous retrouvons : un cas de syphilis maligne précoce, sous forme de syphilides papuleuses et ulcéreuses résistantes à un traitement mercuriel intensif qui guérirent facilement sous l'influence de l'arsenic. Dans un autre cas, larges syphilides ulcéreuses, les plaies manifestèrent rapidement une tendance à la cicatrisation. L'observation suivante se rapporte à un malade atteint de syphilis maligne précoce :

Er ... Syphilis datant de 1 an; soigné par pilules et piqûres d'huile grise; depuis 6 semaines, aucun traitement; actuellement, syphilides ulcéreuses, gangréneuses, de l'amygdale et du pharynx ; nasonnement, violente douleur dans la gorge, dysphagie. Après deux injections (85 centigrammes et 1 gramme d'atoxyl), douleur diminuée de moitié; après 23 jours et 4gr,50 d'atoxyl, ulcères guéris.

*
* *

Les accidents parasyphilitiques, théoriquement, ne peuvent

1. Duhot, *Presse médicale belge*, 10 août, 1907.
2. Heuck, *Berlin. Klin. Woch*, 2 septembre 1907.
3. Bettmann, Le traitement arsenical de la syphilis, *Münchener med. Woch.* 24 septembre 1907.

être justiciables d'un traitement spécifique. Nous donnons à titre de curiosité l'observation de trois individus tabétiques chez qui les injections d'anilarsinate ont été tolérées sans incident spécial ; nous avions craint, en effet, au début de nos recherches, que l'arsenic, agissant directement sur le système nerveux, aggrave la lésion médullaire.

Hi .... Syphilis il y a 25 ans. A pris tous les ans de l'iodure de potassium. Troubles de la marche depuis plus d'un an. Douleurs fulgurantes dans les membres inférieurs. Perte des réflexes rotuliens, etc. Traité par séries de piqûres d'énésol, puis par injections d'atoxyl : 1re série, du 7 au 17 mai. injections de 25, de 30, de 30, de 50 et de 35 centigrammes d'atoxyl. Le malade prétend avoir moins de vertiges, pas de douleurs fulgurantes, et un peu plus de forces ; 2e série, du 19 au 28 août, 4 injections de 50 centigrammes. le traitement est supporté sans incident ; 3e série, du 4 au 16 novembre, 5 injections d'atoxyl bien tolérées. Le malade a moins de douleurs, moins d'étourdissements et a augmenté de poids.

Gu ... Syphilis il y a 16 ans. Tabès. 4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl en 9 jours.

Fa ... Syphilis il y a 16 ans. Hémiplégie il y a 13 ans. Ataxie. Aucun trouble après 4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl en 8 jours. Selon le malade, une névralgie persistante aurait disparu.

***

Si les études de clinique thérapeutique démontrent nettement l'action curative de l'arsenic sur les lésions syphilitiques, si le fait est établi : on peut faire disparaître un syphilôme par le traitement arsenical, l'explication de ce fait exige encore de nouvelles recherches.

Quand fut établie la théorie microbienne, on admit [1] que le médicament spécifique, tel un antiseptique, détruisait les parasites. A la suite de la découverte de Schaudinn, plusieurs observateurs, Lévy-Bing [2], Galasescu... [3], recherchent le spirille sur les chancres après mercurialisation du malade, et ne retrouvant

1. Finger, *La Syphilis et les maladies vénériennes* (2e édition française), page 223. « ... Le mercure est un remède direct. Le mercure est un médicament qui atteint directement le virus, le détruit ou le rend inoffensif. La meilleure preuve en est dans cette remarque de Boeck, qu'il suffit de mélanger une goutte de pus syphilitique avec une goutte de sublimé à 1/1000 pour que l'inoculation du mélange soit toujours négative. L'addition de solution iodée à du pus syphilitique n'empêche pas l'inoculation de réussir. L'iode n'est pas un remède direct, mais indirect de la syphilis. »

Hallopeau, dans sa thèse d'agrégation, admettait la théorie de l'action parasiticide directe du mercure dans la syphilis.

2. Lévy-Bing, Action du mercure... *Bulletin médical*, 12 juillet 1905.

3 Galasescu et Jonitescu, L'influence du traitement mercuriel (injections de sublimé) sur le *spirochaete pallida* de Schaudinn. *Spitalule*, décembre 1905.

plus de microorganismes, ils concluent que l'hydrargyre agissait comme spirillicide.

Mais, outre que l'absence des spirochètes n'est pas rare chez des malades dépourvus de tout traitement spécifique, d'autres auteurs ont publié avoir retrouvé les spirilles après un traitement mercuriel intensif. Ainsi, Pasini [1], sur coupes histologiques, retrouve des spirochètes abondants, dans une papule, chez un enfant traité par des bains de sublimé, des frictions et des injections mercurielles.

Si l'on ne peut constater, dans l'organisme de l'homme, la disparition des parasites sous l'influence immédiate de la médication, les observations faites *in vitro* ne sont pas plus favorables à l'hypothèse de la destruction directe par ces substances chimiques.

De même que Levaditi [2] conserve vivants des spirilles de la poule dans une solution d'atoxyl, solution suffisante cependant pour guérir la maladie chez ces animaux, de même Beer [3] constate que, plongés dans une solution d'atoxyl à 1 0/0, les spirochètes de Schaudinn restent intacts ; Uhlenhuth [4] remarque que l'atoxyl, en dehors de l'organisme, en solution à 1 0/0, ne parvient pas à influencer la motilité des parasites.

On tend actuellement à admettre que l'action curative de l'arsenic (et du mercure) se produit par un intermédiaire, probablement les leucocytes. On sait que la crise, dans certaines spirilloses, s'explique par le mécanisme de la phagocytose : fièvre récurrente (Metchnikoff), spirillose des oies (Cantacuzène), spirillose des poules et tick fever (Levaditi et Manouélian). Si on traite la spirillose des poules par l'atoxyl, on constate que l'action du médicament est indirecte (Levaditi, Uhlenhuth) ; en est-il de même pour la syphilis?

La phagocytose du spirille de Schaudinn, phagocytose exagérée sous l'influence du traitement arsenical ou hydrargy-

1. Pasini, Permanence du *spirochaete pallida* dans une tache atrophique pigmentaire, résidu d'une papule syphilitique, *Giorn.-italiano delle malatie ven et d. pelle*, 1906.

2. Levaditi, L'Influence de l'atoxyl sur la spirillose provoquée par le *spirillum gallinarum*, *C. R. Soc. biologie*, 15 juin 1907. Uhlenhuth fait les mêmes constatations avec le spirille de la poule.

3. Beer, Sur la valeur de l'éclairement sur fond sombre, pour le diagnostic clinique de la syphilis, *Münchener med. Woch.* 24 septembre 1907. Selon cet auteur, les injections d'atoxyl, même à la dose totale de 6 grammes, et les injections de sublimé (0,10 centigrammes, dose totale) ne font pas disparaître les spirochètes.

rique, cette destruction intracellulaire n'a pas été encore nettement démontrée[1] comme correspondant à la réalité des faits.

C'est donc par analogie avec le mécanisme de guérison étudié dans les trypanosomiases et certaines spirilloses, que l'on peut admettre la destruction des spirochètes de la syphilis en 2 temps : 1er temps, affaiblissement du microbe sous l'influence du médicament; 2e temps, phagocytose et destruction intracellulaire du parasite[2].

* * *

Les recherches de biologie thérapeutique, pour employer une expression de Ehrlich, doivent non seulement chercher à établir le mode d'action du médicament spécifique, mais encore à expliquer les récidives de la syphilis, récidives qui se produisent malgré un traitement très intensif.

C'est un argument à valoir contre la théorie du médicament « poison du microbe syphilogène », que le défaut de proportion entre la quantité du produit chimique et les effets thérapeutiques constatés.

Ainsi, avec une faible dose, 50 centigrammes d'atoxyl par exemple, on voit guérir une papule. Or, on peut admettre que dans cette papule la solution arsenicale est à une dilution incapable de tuer ces microorganismes. Si l'on emploie des doses plus élevées on ne pourra arriver à la destruction totale des spirilles.

1. La phagocytose du microbe de la syphilis, en dehors de toute intervention thérapeutique, a été constatée par : Levaditi (*Macrophages dans la pneumonie blanche des hérédo-syphilitiques, polynucléaires dans le pemphigus*) ; Ehrmann (*Leucocytes mononucléaires dans le chancre*); Gierke (*Polynucléaires dans le poumon des hérédo-syphilitiques*); Hoffmann (*Fibroblastes et plasmazellen dans le chancre*). Par contre, Levaditi « n'a pu s'assurer de la réalité de la destruction extracellulaire des tréponèmes au cours de la syphilis acquise ou héréditaire ». La question de la syphilis au XIVe Congrès d'hygiène et de démographie, *La Presse médicale*, 6 novembre 1907.

2. Il est curieux de retrouver, prévue et posée en 1890, la question du rôle des leucocytes dans la guérison de la syphilis traitée par le mercure. Le savant syphiligraphe lyonnais, Diday, écrit : « De quelque manière qu'il agisse — et c'est vraisemblablement en mettant en jeu la résistance des éléments organiques — le mercure est le poison du microbe syphiligène ». Et, plus loin : « Le mercure opère donc en portant atteinte à la vitalité du microbe parasite. *Est-ce en stérilisant son terrain nutritif? Est-ce en provoquant la formation plus active des phagocytes qui ont pour office de détruire les microbes pathogènes ?* (*La Pratique des maladies vénériennes*, 3e édition, pages 377 et 384.)

En 1903, dans le journal *La Syphilis*, nous émettions l'idée que le mercure était incapable de détruire directement le virus dans l'organisme et que ce médicament agissait par certains intermédiaires.

Cliniquement, chez 2 malades atteints d'une syphilis analogue et recevant, l'un des doses de 50 centigrammes, l'autre des doses de 1 gramme, nous avons observé la récidive à peu près à la même date après cessation du traitement. La destruction des spirilles n'est donc nullement en rapport avec l'intensité du traitement.

Les spirilles qui échappent au traitement seraient devenus résistants à l'action des médicaments [1]. C'est ainsi que Ehrlich [2] a montré que l'on pouvait créer artificiellement des races de trypanosomes accoutumées à la fuschine, au trypanroth, à l'atoxyl.

On voit, au cours du traitement de la syphilis, une 1re cure suivie d'une amélioration rapide, puis une 3e, une 4e série de traitement devenir de moins en moins efficaces. Dans ces cas, il est indiqué, suivant les idées de Ehrlich, d'attaquer le microbe accoutumé à un produit chimique, par une autre substance, et dans la syphilis en particulier, de faire intervenir le mercure après l'arsenic ou inversement.

Dans la pratique, cette médication alternante, s'est montrée très active surtout contre des lésions devenues torpides et résistantes, soit à un traitement mercuriel, soit à un traitement arsenical. De plus, en faisant succéder l'administration de l'hydrargyre à celle de l'arsenic, on permet à l'organisme humain de se reposer en éliminant successivement chacun de ces toxiques.

Ro... Syphilides psoriasiformes de la paume des mains; malade femme ne supportant que deux injections d'atoxyl consécutives et très sensible à l'hydrargyre.

On fait 2 injections d'énésol (à 3 centigrammes), 1 injection d'atoxyl (50 centigrammes), puis 2 d'énésol et 2 d'atoxyl. En 17 jours, lésions guéries; le traitement a été ainsi bien toléré et s'est montré très efficace.

A côté du traitement alternatif, il existe un traitement combiné, arsenico-mercuriel, où l'association des deux spécifiques donne les résultats les plus remarquables. Nous avons pu administrer en même temps, le plus souvent sans inconvénient,

1. « Les spirilles ne s'accoutument pas seulement aux médicaments, mais encore aux anticorps. Ainsi s'explique que dans l'évolution naturelle de l'infection syphilitique, certains microorganismes échappent à la destruction, en se vaccinant contre les anticorps. » Levaditi, Immunisation des spirilles de la tick-fever contre les anticorps. Mécanisme de la rechute, *C. R. Soc. de Biologie*, 4 mai 1907.

Neisser a émis la théorie que les récidives de la syphilis se produisent au moment où faiblit l'immunité antispirillaire de l'organisme.

2. Ehrlich, Chemotherapeutische Trypanosomen-Studien. *Berlin. Klin. Woch*, 4, 11, 18 et 25 mars 1907.

l'atoxyl d'une part, et de l'autre les diverses préparations mercurielles : pilules, solutions, par voie digestive, frictions, injections, (calomel, huile grise et sels solubles). Cette médication s'est montrée vraiment puissante contre certaines syphilis rebelles :

La... Syphilis datant de 8 mois ; syphilides buccales, plaques muqueuses hypertrophiques, presque végétantes, traitées sans succès par pilules, puis frictions mercurielles ; après 3 piqûres d'atoxyl (une à 75 centigrammes, 2 à 50 centigrammes), l'amélioration est évidente, les plaques du voile du palais ont beaucoup pâli ; après 6 piqûres d'atoxyl, la lèvre est devenue souple et indolore ; après la 8e piqûre, on intercale une injection de 5 centigrammes de calomel, suivie de 2 piqûres d'atoxyl ; très rapidement les plaques de la lèvre et de la gorge disparaissent. On fait encore une seconde injection de 5 centigrammes de calomel, suivie de 2 injections d'at... En résumé, en 30 jours, une poussée de syphilides buccales est complètement guérie, après 12 injections d'atoxyl à 50 centigrammes et une à 75 centigrammes combinées avec 2 injections de 5 centigrammes de calomel. Aucun trouble dû à l'atoxyl.

*
* *

Pour assigner à l'arsenic, et à l'atoxyl en particulier, la place que doit occuper cette médication dans la cure de la syphilis, il faut tenir compte non seulement de sa valeur thérapeutique, mais encore de sa puissance toxique.

En employant un sel organique « à toxicité dissimulée » on espérait faire absorber sans danger, par l'économie animale, des doses élevées du poison arsenic. Selon Blumenthal [1], une solution d'atoxyl, contenant la même quantité d'As que la liqueur de Fowler, serait 40 fois moins toxique que celle-ci ; dans la combinaison aniline et acide arsénique, l'aniline ne jouerait qu'un rôle effacé et, si l'intoxication se produit, on retrouve les symptômes connus de l'empoisonnement arsenical.

Il importe, pour éviter les inconvénients de l'arsenicisme, d'étudier l'élimination du médicament et d'éviter le danger dû à l'accumulation dans l'organisme de doses répétées.

Les recherches de Croner et Seligmann [2] ont montré que l'atoxyl s'éliminait rapidement, en grande partie par les reins, tandis qu'une faible portion du médicament était retenue dans certaines organes, le foie principalement. On retrouve dans

1. Blumenthal, De l'emploi de l'atoxyl en médecine. *Medic. Klinik*, 24 mars 1907.

2. Croner et Seligmann, Ueber das Verhalten des Atoxyls im Organismus, *Deutsche med. Woch.* 20 juin 1907.

l'urine l'atoxyl en nature par la réaction que donne l'acide hypophosphoreux chlorhydrique [1]; ce procédé est aisément applicable à la clinique [2].

De ces constatations, il faut retenir qu'il importe, pour éviter les effets d'accumulation du remède, d'espacer les doses; aussi laissons-nous entre deux injections un intervalle de deux ou trois jours.

D'autre part, on ne doit pas injecter l'atoxyl pendant trop longtemps; à un certain moment, l'intoxication peut se produire; il est donc indiqué de laisser reposer de temps en temps le malade et d'attendre l'élimination totale de l'arsenic.

Chez les animaux, après l'injection de doses élevées, mais non mortelles, on obtient la parésie du train de derrière; cette parésie dépend non seulement de la quantité injectée, mais encore de l'intervalle qui sépare les injections. La résistance des animaux est très variable suivant la race : ainsi un lapin de 2 kilos supporte la dose énorme de 50 centigrammes, dose mortelle pour un singe de même poids. Chez le singe macaque, en répétant fréquemment des injections de 15 centigrammes par kilogamme on provoque la parésie du train de derrière; cette parésie est curable après cessation des injections.

Les différences suivant les individus constituent un fait bien connu dans l'histoire de l'arsenicisme; avec les mêmes doses d'anilarsinate, des animaux de même race et de même poids vont, l'un, manifester des signes d'intoxication, mourir même, tandis que l'autre restera indifférent.

Chez l'homme atoxylé on n'a pas constaté les phénomènes paralytiques si faciles à provoquer chez les animaux. Cepen-

1. Bougault a montré que l'atoxyl donne avec l'acide hypophosphoreux. chlorhydrique un précipité, jaune à froid, brun foncé à chaud. A chaud la réaction est sensible avec 1/2 milligramme d'atoxyl. On peut ainsi retrouver ce médicament dans l'urine. Bougault, *Journal de Pharmacie et de Chimie*. 16 juin 1907. Voy. aussi Engel et Bernard : Sur un procédé rapide de dosage de l'arsenic. *Acad. des Sciences*, 1896.

2. Voici la note que M. Camille Pépin a bien voulu nous remettre : « Ayant eu l'occasion de suivre les urines d'une malade soumise au traitement de l'atoxyl, nous avons appliqué le réactif de Bougault à la recherche de ce sel, en abandonnant à froid pendant plusieurs heures p. e. d'urine et de réactif. Cette réaction a toujours été positive avec les urines de la première émission qui a suivi l'injection; les produits de la seconde et de la troisième émissions ont donné un trouble de moins en moins accusé; les émissions suivantes donnèrent un résultat négatif. Le sel arsenical n'est plus décelé dans l'urine après 12 heures environ. »

Ajoutons que cette malade avait reçu des injections oscillant entre 90 centigrammes et 50 centigrammes d'atoxyl.

dant on connaît la paralysie des membres inférieurs, lassique après l'emploi exagéré de certaines préparations arsenicales, liqueur de Fowler entre autres.

On a par contre décrit comme accident spécial à l'atoxyl les troubles oculaires, les uns passagers, sans gravité, les autres définitifs et conduisant à l'atrophie du nerf optique.

Dès le début de nos recherches, prévenu de la possibilité de ces accidents, nous ne faisions qu'un petit nombre d'injections ; puis, peu à peu, nous avons manié plus hardiment, quoique avec une grande prudence, ce produit pour ainsi dire inusité en France ; nous avons eu la satisfaction de pouvoir publier le chiffre de 1,349 injections pratiquées chez 181 malades (chiffre relevé le 17 octobre 1907) sans avoir observé un seul cas de lésions oculaires. Chaque injection contenait 50 centigrammes, exceptionnellement 75 centigrammes et 1 gramme. Certains malades avaient reçu en plusieurs mois des quantités élevées d'anilarsinate : Er.. 21 grammes en 165 jours ; Bl.. 13 grammes en 120 jours ; Co.. 18 grammes en 196 jours ; Ko... 17^{gr},50 en 180 jours.

Hallopeau, dans sa clientèle d'hôpital, chez 160 malades [1], n'a observé aucun phénomène oculaire dû à la toxicité du produit.

Il est d'une importance capitale d'être fixé sur les doses qui peuvent produire un accident aussi regrettable. L'étude du traitement de la maladie du sommeil fournit aux syphiligraphes des renseignements précieux. Dans un rapport récent [2], Koch montre que les lésions oculaires apparaissent après injections répétées de doses de 1 gramme, doses qui ne sont nullement utiles ni indiquées dans le traitement de la syphilis. Les injections de 50 centigrammes sont incapables, d'après ce savant, de déterminer l'atrophie du nerf optique.

Le médecin devra, en tout cas, s'abstenir de traiter par l'anilarsinate un malade atteint de lésions de la rétine ou du nerf optique, lésions que l'on ne manquerait pas d'attribuer à la médication atoxylique.

Dans un cas [3] publié en France sous le titre : « Atrophie

1. Hallopeau, *La Clinique*, 6 septembre 1907.
2. Robert Koch, Rapport sur les travaux de l'expédition allemande pour la maladie du sommeil. *Deutsche med. Woch.* 14 novembre 1907.
3. Terrien, *Annales des maladies vénériennes*, oct. 1907.

optique à la suite d'injections d'atoxyl », il s'agissait d'une lésion oculaire ayant débuté deux ans avant le traitement arsenical incriminé.

Dans un autre exemple qui nous a été signalé, il s'agissait d'un tabétique qui présenta une double atrophie du nerf optique à la suite d'injections d'atoxyl; mais depuis longtemps ce malade présentait des troubles prononcés de la vision, et la névrite peut être à bon droit attribuée, au moins pour une part, à l'infection syphilitique.

Si aujourd'hui on ne croit plus que le mercure provoque la paralysie générale et d'autres accidents graves du système nerveux, il ne faudrait pas remonter bien haut dans la bibliographie pour retrouver ce genre d'accusations.

Dans la maladie du sommeil comme dans la syphilis, on peut se demander si certaines névrites oculaires ne seraient pas causées par le microbe et non pas seulement par le toxique; Spielmeyer[1] vient d'observer la dégénérescence du nerf optique en même temps que le tabès chez des chiens atteints d'infection naganique.

On comprend, si la coïncidence se produit entre le traitement atoxylique et l'apparition des troubles oculaires, qu'il soit parfois difficile de rattacher les symptômes observés à leur véritable cause. Une seule fois, nous avons observé cette coïncidence : il s'agissait d'un individu qui avait reçu, en 3 mois, des doses espacées et au total 4gr,50 d'atoxyl; dans ce cas, nous pûmes relier les troubles optiques à des lésions corticales du cerveau, d'origine purement syphilitique.

Si les lésions oculaires doivent être évitées à tout prix dans le traitement de la syphilis, il est des symptômes de l'intoxication par l'anilarsinate que l'on ne peut toujours empêcher et qui, du reste, n'ont aucune gravité réelle. Tantôt, il s'agit d'une réaction gastro-abdominale : coliques, nausées, vomissements; tantôt, d'une réaction nerveuse : céphalée, courbature, angoisse, dyspnée.

Ces signes caractéristiques de l'intoxication arsenicale aiguë apparaissent brusquement vers la 10e heure qui suit l'injection. On les constate exceptionnellement après une seule piqûre,

1. Spielmeyer, Dégénérescence optique dans le « tabes trypanosomique » des chiens. *Klin. Monat. f. Augenheilk*, 1907, p. 545-551.

le plus souvent après la 4e piqûre (de 50 centigrammes d'atoxyl).

Ces symptômes, plus bruyants que réellement dangereux, sont aisément calmés par les opiacés. Ils ont le mérite, quand ils apparaissent, de prévenir le médecin et de commander la suspension momentanée du traitement. Rien de plus facile que de reconnaître, après un premier essai de 4 injections, si l'on a affaire à un individu tolérant ou à un intolérant. Chaque personne intolérante présente un cœfficient spécial d'intoxication, celle-ci se manifestant régulièrement après le même nombre d'injections.

Rien ne permet de prévoir l'existence de la sensibilité à l'arsenic, ce que l'on a désigné sous le terme « d'idiosyncrasie ». D'après nos statistiques, il existe 12 0/0 d'individus supportant mal l'anilarsinate. Mais cette statistique ne s'applique qu'aux hommes, les femmes présentant une plus grande susceptibilité aux doses de 50 centigrammes.

A côté des individus intolérants, il existe une majorité de malades qui supportent le traitement sans le moindre incident. Nous connaissons des personnes qui semblent pouvoir accepter indéfiniment des injections d'atoxyl à la dose de 50 centigrammes. Il est évident, cependant, que dans le traitement de la syphilis, il est inutile de répéter sans arrêt les doses médicamenteuses, au risque de provoquer des accidents d'intoxication chronique.

S'il n'est pas permis actuellement de fixer d'une façon absolue le nombre et la durée des injections nécessaires pour le traitement d'une syphilis en évolution, nous pouvons préciser la quantité d'anilarsinate nécessaire pour chaque injection, soit 50 centigrammes. Les doses inférieures sont sans action antisyphilitique appréciable [1]. Les doses supérieures provoquent, chez les personnes susceptibles à l'arsenic, une réaction beaucoup plus violente que la dose de 50 centigrammes.

Voici l'histoire d'un malade qui, ne pouvant supporter les doses de 1 gramme, n'était pas cependant intolérant pour l'atoxyl, administré à la dose de 50 centigrammes.

1. Scherber, dans la clinique de Finger, injecte 10 et 20 centigrammes d'atoxyl; malgré ces doses faibles, il reconnaît à l'atoxyl une influence indéniable, spécifique sur les lésions syphilitiques.

Kreiblich et Krauss commencent par 0gr,20 d'atoxyl, puis donnent 0gr,40. PRAGER, *Med. Woch.*, 5 octobre 1907.

Fr. Syphilis il y a 15 ans; leucoplasie et glossite scléreuse de la langue, récidivant malgré de nombreuses séries de traitement mercuriel. On pratique : le 16 mars, une injection de 50 centigrammes, bien supportée; le 21 mars, une injection de 1 gramme, suivie de coliques légères et vomissements attribués par le malade à une indigestion et non signalés au médecin; on fait une 3e injection de 1 gramme d'atoxyl le 23 mars : celle-ci est suivie de coliques violentes qui nécessitent une injection de 2 centigrammes de chlorhydrate de morphine. Le 16 mai, on pratique une seconde série de 5 injections en 11 jours, de 50 et 75 centigrammes. Le 19 juin, on commence une série de 4 injections de 50 centigrammes d'atoxyl en 7 jours; le 4 septembre, une série de 5 injections d'atoxyl en 12 jours; la 2e et la 3e série se terminent par une colique très légère, sans nausées ni vomissements. La 4e série n'est suivie d'aucun trouble après la 5e piqûre. Le résultat est très favorable au point de vue thérapeutique.

En résumé, la dose de 50 centigrammes, dose thérapeutique nécessaire et suffisante pour le traitement de la syphilis, cette dose est en même temps la dose non toxique. Elle constitue un maximum qu'il est inutile et parfois dangereux de dépasser.

Nous recommandons de donner d'emblée 50 centigrammes et non d'agir par quantités progressivement croissantes, comme on a l'habitude de le faire pour l'administration de la liqueur de Fowler. En effet, chez les individus intolérants, susceptibles, en multipliant le nombre des doses on sensibilise le malade et l'on produit les phénomènes d'intoxication dès que l'on atteint une dose élevée; il n'existe donc, ni accoutumance du malade à l'atoxyl, ni vaccination contre l'anilarsinate.

* * *

En face de cet exposé des propriétés thérapeutiques et toxiques de l'anilarsinate de soude, il faudrait mettre en parallèle les propriétés de l'hydrargyre. Si les syphiligraphes, en majorité, ont admis que l'atoxyl pouvait faire disparaître les lésions de la syphilis, quelques-uns ont pris la défense du mercure et ont avancé que l'arsenic avait une moindre valeur préventive; pour eux, « le mercure resterait le traitement de fond de la vérole ». Ces défenseurs du mercure[1] ont oublié que proposer l'atoxyl n'était nullement attaquer le mercure. Comme médicament de la vérole, ils reprochent à l'atoxyl d'être

1. A la Société de dermatologie, A. Fournier s'exprima ainsi : « Lisez le mémoire de M. Hallopeau, la plume en main, et en face des avantages encore incertains du médicament, placez les aléas, les incidents, voire les accidents, et vous serez à tout jamais dégoûtés de l'atoxyl. » Journal *La Clinique*, 6 sep. 1907, page 567.

un remède dangereux et de provoquer, en particulier, l'atrophie du nerf optique; nous avons montré que cet accident grave pouvait être évité.

Bien plus, il existe nombre d'individus qui ne peuvent supporter le mercure et qui tolèrent fort bien les injections d'atoxyl. Ce composé, non seulement ne produit aucun des accidents consécutifs à l'intoxication par l'huile grise : « neurasthénie, cachexie, fièvre, entérite, stomatite, dermite [1] », néphrite, colite, accidents ayant même occasionné la mort, mais encore aucune douleur locale au point de l'injection; l'injection d'anilarsinate est mieux supportée que n'importe quelle injection de sels mercuriels solubles; de plus, l'atoxyl ne provoque jamais les nodosités, les abcès, les cicatrices indélébiles que l'on observe parfois avec l'hydrargyre.

Chez les malades « fatigués du mercure », l'atoxyl est tout indiqué; il en est ainsi des individus atteints de stomatite mercurielle, accident fréquent qui commande l'arrêt du traitement hydrargyrique. Nombre de syphilitiques, atteints de carie dentaire, de gingivite, souffrent de salivation, de stomatite, même après un traitement mercuriel peu intensif; dans ce cas, l'arsenic peut remplacer le mercure.

De... Après une piqûre de calomel, stomatite violente qui oblige de suspendre tout traitement mercuriel. Le malade présente sur la lèvre supérieure un chancre mesurant 2cm 1/2 de large avec œdème labial très prononcé; 14 jours après cette injection, on commence le traitement arsenical : après 6 piqûres de 50 centigrammes d'atoxyl, en 12 jours, le chancre est presque complètement cicatrisé, l'enflure de la lèvre disparue et le malade reprend ses occupations.

Pour terminer, nous donnons quelques observations de malades traités uniquement par l'arsenic pendant plusieurs mois :

Co... Syphilis de 6 mois: Depuis 1 mois a cessé un traitement par piqûres de biiodure. Actuellement syphilides papuleuses hypertrophiques; disparition des papules après 4 injections (3 de 50 centigrammes d'atoxyl et 1 de 1 gramme). Depuis le 9 mars, on laisse le malade sans traitement; le 6 juin, récidive datant de 15 jours : syphilides papuleuses disséminées; guérison le 21 juin après 4 injections d'atoxyl (3 de 50 centigrammes et 1 de 75 centigrammes). Observation remarquable par le traitement réduit à un petit nombre d'injections (8 en 104 jours).

Du... Chancre il y a 4 mois: pas de traitement mercuriel. Syphilides papuleuses; le 18 mars, on commence les injections arsenicales : 3gr,10 d'atoxyl,

1. Milian, L'intoxication par l'huile grise, *Revue des hôpitaux*, juillet 1907.

en 7 jours, disparition des papules. Du 20 au 29 avril, 3 injections de 75 centigrammes d'atoxyl. Puis le malade est soumis à un traitement par les voies digestives : 4 comprimés de 5 centigrammes d'atoxyl en 4 fois par jour. Du... absorbe en 4 mois 200 comprimés sans aucun trouble, ni énervement, ni colique. Le 24 octobre, il existe deux syphilides croûteuses, l'une à l'avant-bras, l'autre à la jambe. Le 5 novembre, après 5 injections de 50 centigrammes d'atoxyl, guérison complète de ces lésions. Cette observation est intéressante non seulement en montrant la supériorité des injections sur l'ingestion, mais encore en rappelant l'analogie entre les pilules mercurielles et les comprimés d'atoxyl.

Re... Ostéopériostite gommeuse de la jambe. On a interrompu depuis 3 mois le traitement mercuriel pour stomatite chronique. On injecte 3gr,80 d'atoxyl en 11 jours; bientôt, un ulcère fistuleux cicatrisé, l'œdème du pied disparu ainsi que la douleur, la marche est redevenue possible. On revoit le malade 125 jours après cessation du traitement atoxylique : le péroné est en bon état et aucune poussée nouvelle ne s'est produite.

Du parallèle entre le mercure et l'arsenic, tous deux antisyphilitiques, tous deux spécifiques, il ne faut, suivant nous, tirer aucune conclusion absolue et défavorable à l'une ou à l'autre de ces médications; c'est au médecin à savoir varier l'attaque contre la syphilis en usant de toutes les armes, mercure, iodure, arsenic, que la thérapeutique met à sa disposition.

*
* *

Dans ces recherches de thérapeutique appliquée, nous avons été aidé par un ensemble de circonstances favorables. Il nous était indispensable, pour nos essais, d'agir sur des malades hospitalisés que l'on pouvait surveiller facilement. M. Hallopeau, en nous ouvrant son service de l'hôpital Saint-Louis, nous a laissé toute liberté d'allure, ce dont nous le remercions vivement. De même, MM. Renault, Humbert et Griffon, en mettant à notre disposition les ressources de l'hôpital du Midi, ont mérité notre reconnaissance.

A l'Institut Pasteur nous étions mis au courant du maniement de l'atoxyl dans les trypanosomiases, grâce à MM. Laveran et Mesnil, si compétents sur cette question. Notre maître, M. Metchnikoff, non seulement nous a fait participer à ses recherches expérimentales sur la syphilis, mais encore nous a guidé, encouragé et soutenu dès le début de nos recherches sur le traitement de cette infection, et son approbation a été pour tous la meilleure des récompenses.

Sur la coloration du bacille tuberculeux

Par MARTIN HERMAN

Directeur de l'Institut d'hygiène et de bactériologie du Hainaut, à Mons.

Il y a 18 ans, nous publions, dans ces mêmes *Annales*, une note sur un procédé rapide de coloration du bacille tuberculeux dans les liquides et les tissus organiques[1].

Dans le même numéro paraissait un article de MM. Brouwier et Malvoz, relatant un cas de tuberculose congénitale chez le veau. Bien que les lésions fussent manifestement tuberculeuses, ces auteurs n'étaient pas parvenus, par les méthodes colorantes connues, à mettre en évidence le moindre bacille de Koch. M. Malvoz me demanda alors d'essayer mon procédé sur les coupes qu'il avait faites dans les lésions tuberculeuses et, dès le premier essai, nous pûmes mettre en évidence de véritables couronnes de bacilles, disposées à la périphérie de chaque tubercule. (Voir la figure accompagnant la note de MM. Brouwier et Malvoz.)

Essentiellement, notre procédé consiste en l'imprégnation, à chaud, du bacille tuberculeux par le Krystallviolet (violet de méthyle 6 B) additionné de carbonate ammonique. Cette méthode de coloration fut employée à Liège, dans les laboratoires et les cliniques, pendant plusieurs années ; elle fut signalée dans certains manuels classiques (Courmont, Besson, Bizzozero, et Firket). Nous y restâmes fidèles jusqu'en ces derniers temps ; et si, à un moment donné, nous avons repris le Ziehl pour nos expériences personnelles et même pour les recherches relevant de notre service d'analyses, c'était pour la raison — banale peut-être — de nous mettre en accord de technique avec nos collègues belges et étrangers ; car, il faut bien le reconnaître, c'est la méthode de Ziehl qui, à tort ou à raison, est la plus courante.

Il était cependant manifeste que le Krystallviolet ammonique montrait, dans les crachats et les tissus, des bacilles tuberculeux que ne révélait pas le Ziehl.

1. *Ann. Pasteur*, 1889, n° 3.

Peut-être, le plupart des auteurs ne voient-ils, dans notre procédé, qu'une modification de la méthode de Koch-Ehrlich, consistant dans le traitement à chaud de l'objet à colorer et dans le choix d'une couleur d'aniline différente, mais quelconque.

Nous étions cependant arrivé, par de nombreux essais et après une longue pratique des méthodes de coloration, à cette conviction que le carbonate ammonique à 1 0/0 constituait, pour le bacille tuberculeux, et avec le violet de méthyle 6 B, un mordant bien supérieur à l'acide phénique dans son emploi avec de la fuchsine.

Mais, comme une méthode de coloration ne constitue, après tout, qu'une façon de faire surtout appréciée de celui à qui elle réussit, nous n'aurions jamais songé à rappeler notre procédé si, tout dernièrement, *Much*, dans un travail fait à l'Institut de Behring [1], n'avait, en employant le Gram, démontré la forme granulaire du bacille tuberculeux.

De plus, dans des formes de tuberculose où le Ziehl échouait, l'auteur réussissait par l'emploi du Gram à outrance. *Much* laisse en effet ses coupes 24 à 48 heures dans un bain de violet de gentiane aniliné, puis il les traite pendant 5 minutes par le liquide de Gram ordinaire, ou préparé avec de l'eau oxygénée. La différenciation se fait par l'alcool-acétone, au secours duquel l'auteur appelle l'acide nitrique à 5 0/0 10 secondes), si la décoloration n'est pas suffisante.

Nous avons essayé la méthode de *Much* et nous n'hésitons pas à déclarer qu'elle constitue un grand progrès sur le Ziehl; autrement dit : *le Gram montre dans les coupes plus de bacilles et des bacilles mieux colorés que le Ziehl.*

Il montre aussi certaines granulations qui, comme l'auteur l'indique, constituent la forme granulaire du bacille tuberculeux. L'habitude du microscope permettra de distinguer ces granulations bacillaires des précipités granuleux, si fréquents avec le Gram.

Nous avons, d'autre part, comparé le procédé de *Much* avec le nôtre et, si nous n'hésitons pas à dire que la comparaison est tout à l'avantage de ce dernier, c'est que *M. Calmette* a bien

1. Much, *In Beitrag zum Lehre von den Infektionwege der Tuberkulose, de Behring, Tuberculosis*, vol. VI, n° 9.

voulu faire contrôler la chose, à son Institut, et m'a confirmé absolument dans cette manière de voir.

Non seulement notre procédé donne plus de bacilles colorés que celui de *Much*, mais encore et dans certains cas, il donne des bacilles entiers, au lieu de la forme granulaire; ce qui signifie que, dans ces cas, la substance du bacille déjà altérée et évoluant vers la forme granulaire, décelable sous cette forme par le *Much* et indécelable par le *Ziehl*, est encore colorable en entier, par notre procédé.

Le carbonate ammonique a-t-il pour la membrane du bacille une affinité spéciale? C'est possible; mais, actuellement, nous nous bornons à constater son action dans le phénomène de teinture, simplement.

Notre bain colorant est composé d'un mordant : *solution de carbonate ammonique à* 1 0/0 *dans l'eau distillée* et d'une teinture : *solution de Krystallviolet à* 3 0/0 *dans l'alcool éthylique à* 95°.

On tient les solutions en flacons séparés et bien bouchés et, au moment de l'emploi, on ajoute 1 partie de la teinture à 3 parties du mordant et l'on mélange intimement.

Le bain est le même pour les frottis et pour les coupes. La décoloration se fait par l'acide nitrique à 10 0/0 et l'alcool éthylique à 95°.

Les coupes faites au microtome à congélation (acide carbonique) dans les tissus fixés par le sublimé acétique (*sublimé à saturation dans l'eau distillée additionnée de* 5 0/0 *d'acide acétique glacial*) sont déposées dans un cristallisoir assez grand et rempli d'eau distillée.

Pour charger une lame, on immerge celle-ci dans l'eau du cristallisoir, on l'agite doucement de bas en haut, ce qui a pour effet de mettre en mouvement les coupes les plus fines, on amène l'une de celles-ci au contact de la lame et on l'y maintient avec la pointe d'une aiguille.

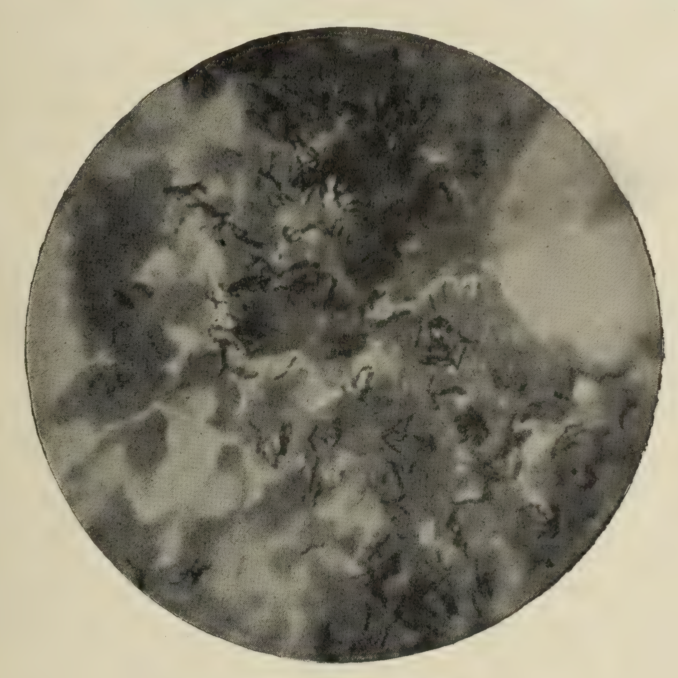
Par de petits mouvements de bas en haut on étale la coupe sur la surface du porte-objet que l'on retire alors du liquide. On égoutte le trop-plein de l'eau, et la lame ainsi chargée est mise sur le couvercle plat d'un bain-marie. Bientôt l'eau de la coupe s'évapore et après quelques instants, celle-ci se fixe au verre en devenant demi-transparente.

C'est le moment d'ajouter le bain colorant, qu'on aspire dans

un compte-gouttes et dont on dépose 6 à 8 gouttes sur la préparation.

On laisse sur le bain-marie jusqu'à production de vapeurs et, après une minute, à partir de ce moment, la coloration est suffisante.

Dès lors, la coupe est traitée comme un simple frottis, car elle adhère suffisamment au verre pour subir les opérations ulté-



Coupe d'un poumon tuberculeux de cobaye.
Coloration par le procédé Herman.
Photographie prise 18 jours après la coloration.
Obj. Imm. 1/12 et Oc. comp. n° 4. Zeiss.

rieures. Elle est plongée pendant quelques secondes dans une cuvette verticale contenant de l'acide nitrique au 10e, puis dans une cuvette semblable pleine d'alcool. Si l'on fait un grand nombre de préparations on fera bien de passer dans deux cuvettes d'alcool successives. La différenciation est complète quand la coupe a pris une teinte bleue très pâle.

Alors, on la lave à grande eau de façon à la débarrasser *complètement* des réactifs décolorants. Il convient d'insister sur

ce temps de l'opération, afin d'éviter la décoloration rapide des bacilles. La préparation étant tenue entre les doigts, la face chargée en l'air, on laisse couler dessus un filet d'eau pris au robinet de distribution que tout opérateur a sur sa table ; ce temps sera prolongé au besoin 2 à 3 minutes. Pendant ce lavage, le ton de la préparation remonte légèrement. On l'égoutte à nouveau et, sans passer dans l'essence ni dans le xylol, la préparation est définitivement desséchée sur le bain-marie et montée dans le baume.

La figure ci-jointe représente une coupe de poumon tuberculeux traitée d'après notre procédé et photographiée 18 jours après la coloration.

Si l'on voulait différencier le fond de la préparation, on plongerait celle-ci pendant une demi-minute dans une solution à 1 0/0 d'éosine dans l'eau ou dans toute autre teinture appropriée ; mais la double coloration est inutile pour la recherche du bacille tuberculeux et notre procédé est uniquement un procédé de recherche. Si la fine structure du tissu ainsi traité en est plus ou moins altérée, on trouvera par contre des bacilles tuberculeux dans beaucoup de cas où les autres méthodes échouent.

On utilisera donc avec avantage notre procédé non seulement pour les crachats, mais encore pour les humeurs et surtout les tissus.

De la sorte, le nombre des tuberculoses dites « occultes » que l'on ne peut révéler que par l'inoculation, sera de beaucoup restreint; or ce fait a une très grande importance dans des études où les conclusions doivent être appuyées sur un nombre très grand de préparations (telle l'étude des voies de pénétration du bacille tuberculeux dans l'organisme) et d'une façon générale dans toutes les occasions où ce micro-organisme doit être rapidement mis en évidence.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE FEVRIER 1908. N° 2

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Recherches sur le traitement des trypanosomiases

PAR MM. A. LAVERAN ET A. THIROUX.

Lingard, le premier, a conseillé l'emploi de l'acide arsénieux dans le traitement d'une trypanosomiase, le Surra de l'Inde; il est à noter que Lingard recommande de faire suivre le traitement par l'acide arsénieux, chez les chevaux, d'un traitement par l'iodure double d'arsenic et de mercure [1]. On verra plus loin que l'association du mercure à l'arsenic a été préconisée dans ces dernières années et qu'elle a donné de bons résultats à différents observateurs dans le traitement des trypanosomiases animales.

D. Bruce, au Zoulouland, a employé l'arsénite de soude dans le traitement du Nagana et il a constaté que cette médication prolongeait la vie des animaux malades, mais ne permettait presque jamais d'obtenir des guérisons [2].

Dès 1904, l'un de nous signalait l'efficacité de l'acide arsénieux dans les infections produites chez le rat par *Tr. gambiense* et indiquait que la dose efficace était de $0^{mgr},1$ d'acide arsénieux pour 20 gr. d'animal, soit 1 milligramme pour un rat de 200 grammes [3]; l'acide arsénieux était employé sous forme d'arsénite de soude.

Broden, Greig et Gray, Dutton, Todd et Christy ont employé l'acide arsénieux ou l'arsénite de soude dans le traitement de la trypanosomiase humaine.

Broden a fait à ses malades des injections hypodermiques de liqueur de Fowler diluée à moitié. Des injections correspondant à 10 et 15 milligrammes d'acide arsénieux ont été

1. LINGARD, *Report on Surra*, t. II, part. 1, Bombay, 1899.
2. D. BRUCE, *Rapports sur le Nagana*, 1895 et 1896.
3. A. LAVERAN, Action du sérum humain sur quelques trypanosomes pathogènes; action de l'acide arsénieux sur *Tr. gambiense*, *Acad. des Sc.* 22 février 1904.

bien supportées. Le nombre des trypanosomes a notablement diminué à la suite de ces injections, mais les parasites n'ont pas disparu d'une manière définitive [1].

Greig et Gray ont donné à des nègres adultes atteints de trypanosomiase des doses d'acide arsénieux de 10 à 20 milligrammes; ils ont constaté des améliorations à la suite de ce traitement [2].

L'état d'un malade soumis par Dutton, Todd et Christy au traitement arsénical s'est beaucoup amélioré [3].

L'action des arsénicaux sur les trypanosomes est remarquable; on arrive facilement à l'aide de cette médication à faire disparaître, en 24 ou 48 heures, les trypanosomes de la grande circulation; malheureusement, les parasites reparaissent presque toujours, alors même que le traitement arsénical est prolongé [4]. On a donc été conduit à rechercher des médications plus efficaces.

Ehrlich et Shiga ont montré qu'une couleur rouge d'aniline de la série benzopurpurine à laquelle ils ont donné le nom de *trypanroth* avait une action très marquée sur les trypanosomes et ils ont réussi à guérir des souris infectées avec le trypanosome du Mal de caderas en les traitant par le trypanroth [5]. Le trypanroth employé seul s'est montré moins efficace dans le traitement d'autres trypanosomiases ou même dans le traitement du Mal de caderas chez d'autres animaux que les souris.

L'un de nous a obtenu de bons résultats, dans le traitement de plusieurs trypanosomiases, en associant la médication arsénicale et la médication par le trypanroth [6].

Différents animaux (souris, rats, chiens, singes), infectés avec *Tr. Evansi*, *Tr. gambiense* ou *Tr. equiperdum*, ont été guéris à l'aide de ce traitement mixte.

Wendelstadt et Fellmer ont préconisé le vert brillant et ont obtenu des succès, dans le traitement des trypanosomiases en associant le vert brillant à l'atoxyl [7].

1. Broden, *La trypanosomiase chez l'Européen*, Bruxelles, 1905.
2. Greig et Gray, *R. Soc. Rep. of. the Sleep. Sickn. Commis.*, 1905.
3. *Liverpool Sch. of. trop. med.*, Mem. XIII, pp. 89-97.
4. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et trypanosomiases*, Paris, 1904, p. 163.
5. P. Ehrlich et K. Shiga, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 28 mars et 4 avril 1904.
6. A. Laveran, *Acad. des Sciences*, 4 juillet 1904, 30 janvier, 17 avril et 10 juillet 1905.
7. H. Wendelstadt et T. Fellmer *Zeitschr. f. Hyg. u. Infections kr.*, 1906 et *Sitzungsberichte der Niederrh. Gesellsch. f. Natur. u. Heilkunde* zu Bonn, février 1907.

Mesnil, Nicolle et Aubert ont expérimenté, chez les animaux atteints de différentes trypanosomiases, plusieurs couleurs de benzidine; une de ces couleurs s'est montrée particulièrement active [1].

Ehrlich a constaté que le chlorhydrate de parafuchsine était doué d'une efficacité assez grande, au moins dans certaines trypanosomiases et chez certaines espèces animales [2].

L'emploi des matières colorantes présente malheureusement des inconvénients; les essais de ces médicaments faits dans le traitement de la trypanosomiase humaine dont la guérison est le but principal à atteindre n'ont pas été favorables.

En 1905, W. Thomas de l'École de Médecine tropicale de Liverpool a appelé l'attention sur les propriétés de l'atoxyl ou anilarsinate de soude [3].

L'activité de l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiases est remarquable; elle a été bien mise en relief par les recherches de Ayres Kopke, de Broden et Rodhain, de Koch, de van Campenhout, de L. Martin, de Thiroux et d'Anfreville, de A. Breinl et J.-L. Todd, de Hollebeke sur l'emploi de l'atoxyl dans le traitement de la trypanosomiase humaine [4].

Les trypanosomes disparaissent rapidement du sang sous l'influence de la médication atoxylique, les glandes lymphatiques hypertrophiées reprennent leur volume normal, les symptômes nerveux s'amendent, l'état général s'améliore et l'on conçoit que les premiers observateurs qui ont employé l'atoxyl aient pu se faire illusion sur l'efficacité de ce médicament.

Une expérience prolongée a démontré que si l'atoxyl pro-

1. F. Mesnil, M. Nicolle et P. Aubert, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1907.

2. P. Ehrlich, *Berlin. klin. Wochenschr.*, mars 1907. R. Koch qui a expérimenté une série de matières colorantes dans le traitement de la trypanosomiase humaine n'a pas obtenu de bons résultats de ces médications. *Deutsche med. Wochenschr.*, 14 nov. 1907,

3. H. W. Thomas, *Proceed. of the R. Soc.*, 11 mai 1905 et *Brit. med. journ.*, 27 mai 1905, H. W. Thomas et A. Breinl, *Liverpool Sch. of trop. med.*, Mem. XVI, octobre 1905, p. 52. — P. Ehrlich, et A. Bertheim, *Berichte der deutschen chemischen Gesellsch.*, Berlin, 1907 et E. Fourneau, *Journal de pharmacie et de chimie*, 1er juin 1907.

4. Ayres Kopke, *Congrès internat. de médecine de Lisbonne*, avril 1906 et *Medicina contemporanea*, Lisbonne, 1907. — A. Broden et J. Rodhain, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, 1906. — R. Koch, *Deutsche med. Wocheschr.*, 20 déc. 1906 et 10 janv. 1907. — E. v. Campenhout, *Acad. R. de. méd. de Belgique*, janvier 1907. — A. Breinl et J. L. Todd, *Brit. med, journal*, 19 janvier 1907. — A. Laveran. *Rapport à l'Acad. de médecine*, 26 février 1907. — L. Hollebeke, *Acad. R. de méd. de Belgique*, 1907.

duisait des améliorations remarquables dans l'état des malades, il guérissait bien rarement et que des traitements intensifs continués pendant une année et même davantage ne mettaient pas à l'abri des rechutes. Ayres Kopke a cité le cas d'un malade traité depuis 15 mois, ayant reçu 33 injections sous-cutanées d'atoxyl (de 1 gramme à 1gr,50 chaque) qui avait encore des trypanosomes dans le liquide cérébro-spinal et qui est mort après avoir présenté une série d'attaques épileptiformes.

Ehrlich a montré que chez les animaux traités par différents produits et notamment par l'atoxyl, on obtient des races de trypanosomes qui résistent à ces produits. Une race de trypanosomes résistante à l'atoxyl, l'est encore au 103e passage [1]. Cette donnée est d'un grand intérêt au point de vue de la thérapeutique des trypanosomiases; elle permet de comprendre l'insuccès des médications prolongées quand on ne fait usage que d'un seul médicament et les succès obtenus avec des médications combinées.

D'autre part, il a été démontré que l'atoxyl pouvait déterminer des accidents graves et en particulier la perte de la vision par névrite optique [2].

Il paraît évident aujourd'hui que l'introduction de l'atoxyl dans la thérapeutique des trypanosomiases, si utile qu'elle ait été, n'a pas résolu complètement le problème et que la recherche de médications plus efficaces et moins dangereuses s'impose.

Moore, Nierenstein et Todd ont essayé une médication mixte par l'atoxyl et le mercure qui leur a donné de bons résultats dans le traitement du Nagana expérimental chez les rats. Le mercure a été employé sous la forme de bichlorure de mercure (solution à 1 0/00), en injections hypodermiques ou sous forme de solution de Donovan (iodure de mercure 1 0/0 et iodure d'arsenic 1 0/0).

Les rats infectés avec *Tr. Brucei* recevaient 0 c. c., 50 de la solution à 5 0/0 d'atoxyl et, 4 jours après, 2 c. c. de la solution

1. P. Ehrlich, *Berlin. klin. Wochenschr.*, mars 1907, et *Journal of the R. Institute of public health*, août 1907.

2. Firket, *Acad. R. de médecine de Belgique*, 26 janvier 1907. — Ayrès Kopke, *Communic. à la Conférence internationale relative à la prophylaxie de la maladie du sommeil*, Londres, juin 1907. — Hallopeau, *Acad. de médecine*, 9 juillet 1907. — R. Koch, *Deutsche med. Wochenschr.*, 14 nov. 1907. D'après Koch ces accidents ne se produisent jamais quand on ne donne pas de doses d'atoxyl supérieures à 0gr, 50.

de sublimé à 1 0/00. Sur 25 rats traités, 13 ont survécu [1]. Tous les témoins traités uniquement par l'atoxyl sont morts.

Il n'est pas facile de comprendre comment les sels mercuriels qui, employés isolément, sont sans action sur les trypanosomes, deviennent actifs quand on les associe à l'atoxyl, mais cette difficulté n'enlève rien à l'intérêt des faits observés par Moore, Nierenstein et Todd. Quand une médication est efficace, c'est le principal; il est temps de rechercher ensuite la cause de cette efficacité.

L'acide arsénieux, délaissé pour l'atoxyl, a été remis en honneur récemment par Lœffler et Rühs[2]. Ces observateurs on expérimenté sur des cobayes infectés de Nagana. L'acide arsénieux en solution à 1 0/00 était injecté dans le péritoine ou bien introduit *per os*. Le meilleur mode d'administration consisterait à donner les doses efficaces (6 milligr. par kilogr. d'animal, *per os*) à 5 jours d'intervalle; 5 doses et parfois 3 suffiraient pour obtenir la guérison.

L'acide arsénieux pourrait être employé aussi comme préventif des trypanosomiases, au même titre que le quinquina comme préventif du paludisme.

Nous avons pensé qu'il était utile de répéter les expériences de Moore, Nierenstein et Todd, ainsi que celles de Lœffler et Rühs; nous avons fait en outre des recherches sur l'utilisation du trisulfure d'arsenic, de l'iodure d'arsenic et de l'acide arsénieux associés à l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiases[3].

Nous étudierons successivement les questions suivantes :

I. — Valeur du traitement mixte par l'atoxyl et les sels de mercure.

II. — Valeur curative et préventive de l'acide arsénieux.

III. — Traitement mixte par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic.

IV. — Traitement mixte pas l'atoxyl et l'iodure d'arsenic.

V. — Traitement mixte par l'atoxyl et l'acide arsénieux.

1. B. Moore, M. Nierenstein et J. L. Todd, *Annals of trop. med. a. parzsitology*, juin 1907 et *Bio-chemical journal*, 1907, t. II, nos 5 et 6. — H. G. Plimmer et J. D. Thompson, *R. Soc.*, 20 juillet 1907. — Nierenstein, *Lancet*, 27 juillet 1907.

2. F. Loeffler et K. Ruhs, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1907, n° 34.

3. Les premiers résultats de nos recherches ont été résumés dans une note communiquée à l'Académie des Sciences, le 4 novembre 1907.

Les expériences ont porté sur des cobayes ou sur des rats infectés avec *Tr. Evansi*, parfois avec d'autres trypanosomes; le traitement n'était commencé que lorsque les trypanosomes étaient nombreux ou assez nombreux dans le sang.

I

Valeur thérapeutique du traitement mixte par l'atoxyl et les sels de mercure.

Les expériences ont porté sur des cobayes inoculés avec le Surra de Maurice.

Les solutions employées ont été : une solution d'atoxyl dans l'eau distillée à 1 0/0; une solution de biiodure de mercure et d'iodure de potassium, 1 gramme de chaque, dans eau distillée 1000 grammes; une solution de sublimé dans l'eau distillée à 1 0/00.

Les doses maximums que peut supporter un cobaye de 400 à 600 grammes sont de : 2 cgr, 50 d'atoxyl en deux doses, à 24 heures d'intervalle; 3 milligrammes en deux doses ou 4 milligrammes en 3 doses de biiodure de mercure, à 48 heures d'intervalle; 4 milligrammes en deux doses ou 6 milligrammes en trois doses de sublimé, à 48 heures d'intervalle.

Un seul cobaye (nº 1) a supporté 6 centigrammes d'atoxyl en deux doses, à 24 heures d'intervalle; il s'agissait d'une femelle pleine; il est possible que l'état de gestation soit pour quelque chose dans cette tolérance exceptionnelle à l'atoxyl. Un cobaye a été intoxiqué par 3 centigrammes et deux autres par 2cgr,50 d'atoxyl, en deux doses, à 24 heures d'intervalle. La dose de 2cgr,50 d'atoxyl en deux fois, à 24 heures d'intervalle, est donc bien une dose limite.

Deux cobayes (nos 11 et 12) ont été intoxiqués par 4 milligrammes de sublimé en deux doses, à 48 heures d'intervalle; ici encore la dose indiquée plus haut est donc une dose limite qui ne met pas entièrement à l'abri des accidents d'intoxication.

Les cobayes que nous avons employés pesaient pour la plupart de 400 à 600 grammes. L'expérience nous a montré que, dans ces conditions, il n'y avait pas lieu de rapporter les doses au kilogramme d'animal et que la résistance était à peu près la même pour les cobayes dont les poids variaient dans les

limites indiquées. Les doses des médicaments ont été diminuées pour les cobayes au-dessous de 400 grammes.

Les solutions ont été employées en injections sous la peau de l'abdomen (atoxyl, biiodure) ou dans les muscles des cuisses (sublimé).

Les injections de sublimé faites sous la peau donnent lieu à des eschares molles qui guérissent lentement; elles sont mieux tolérées dans les muscles des cuisses, mais, là encore, elles occasionnent souvent des accidents : phlegmons, gangrènes, névrites avec perte des doigts des membres postérieurs.

La congestion des reins et l'hématurie ont toujours correspondu, dans nos recherches, à l'intoxication par l'atoxyl, l'hémorragie intestinale à l'intoxication mercurielle.

A. — *Cobayes traités par l'atoxyl et le biiodure de mercure.*

Cobaye 1. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 580 grammes. — 3 août. Trypan. assez nombreux; atoxyl 3 centigrammes. — 4 août. Les trypan. ont disparu ; atoxyl 3 centigrammes. — Les 5 et 6 août, l'examen du sang est négatif. Le 6 août, biiodure de mercure 1 milligramme. P = 570 grammes. — 7 et 8 août, examen du sang négatif; le 7, le cobaye met bas 2 petits qui meurent l'un le 7 et l'autre le 11 août. Le 8 août, on donne encore une dose de biiodure de 1 milligramme. P = 500 grammes. — Du 9 août au 17 octobre, l'examen du sang est toujours négatif. Le cobaye était considéré comme guéri lorsque, le 17 octobre, il est trouvé mort.

A l'autopsie, foyers de pneumonie (hépatisation grise) disséminés dans les deux poumons. La rate ne pèse que 0gr,33. Le foie et les reins ont l'aspect normal.

Il ne paraît pas douteux que ce cobaye qui, depuis 73 jours, n'avait pas montré de trypanosomes, était guéri du Surra quand il a succombé à une pneumonie accidentelle.

Cobaye 2. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 230 grammes. — 7 août. Trypan. nombreux. P = 265 grammes. Atoxyl 8 milligrammes. — 8. Les trypan. ont disparu; atoxyl 8 milligrammes. — 9 et 10 août, examen négatif. — Le 10, le cobaye pèse 275 grammes: il reçoit 0mgr,8 de biiodure de mercure. — 11 et 12, pas de trypan. — Le 12, biiodure de mercure 0mgr,8. — Du 13 au 16, examens du sang négatifs. — 17 août. Trypan. très rares qui se multiplient le 18 et le 19. Un deuxième traitement est institué — 21 août, atoxyl 1cgr,50; 22, atoxyl 1 centigramme. — 23 août, biiodure de mercure 1mgr,50. — Mort le 24 août, à la suite d'une hématurie.

A l'autopsie, les reins sont congestionnés. Les trypanosomes avaient disparu du sang depuis le commencement du deuxième traitement. Le cobaye est mort intoxiqué.

Cobaye 3. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 390 grammes. — 7 août. Trypan. assez nombreux. P = 440 grammes. Atoxyl 1 centigramme. —

Les trypan. ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Du 9 au 12, examen du sang négatifs. — Les 10 et 12, on donne 1 milligramme de biiodure de mercure. P = 490 grammes. — Du 13 au 16, l'examen du sang est négatif. — 17 août, rechute. Un deuxième traitement est institué. — 21 août, 1cgr,50 d'atoxyl; 22, 1 centigramme. — 23, 25 et 27, 1mgr,5 de biiodure de mercure. — Du 22 août au 1er septembre, l'examen du sang est négatif. Le 23 août, le cobaye pèse 525 grammes. 2 septembre, rechute, trypanosomes rares. Le cobaye est soumis à un autre traitement.

Cobaye 4. — 9 août 1907, inoculé de Surra. P = 435 grammes. — 16 août, trypanosomes nombreux. Atoxyl, 1 centigramme. — 17, les rypanosomes n'ont pas disparu complètement. Atoxyl 1cgr,50. — Les 18 et 20 août, on donne 1mgr,50 de biiodure de mercure. Du 18 au 24 août, l'examen du sang est négatif. Le 24, le cobaye pèse 525 grammes. — 25 août, rechute, trypanosomes très rares : on institue un deuxième traitement. Les 25 et 26, on donne 1cgr,50 d'atoxyl ; les 27, 29 et 31, 1mgr,50 de biiodure de mercure. — Du 26 août au 3 septembre, l'examen du sang est négatif. Le 1er septembre le cobaye pèse 550 grammes. — 4 septembre, rechute, trypan. très rares qui deviennent nombreux les 6, 7 et 8 septembre. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 5. — 9 août 1907, inoculé de Surra. P = 455 grammes. — 17. Trypan. non rares ; atoxyl 1 centigramme. — 18. Les trypan. ont disparu ; atoxyl 1cgr,50. — 19, 21 et 23, biiodure de mercure 1mgr,50. — Le 19, le cobaye pèse 480 grammes, le 23, 437 grammes et le 27, 460 grammes. Tous les examens du sang faits du 18 au 27 août sont négatifs. — 28 août, rechute, trypan. non rares. On fait un second traitement. 28, atoxyl 1cgr,50 ; 29, 1 centigramme ; 30 août, 1er et 3 septembre, biiodure de mercure 1mgr,50. Les 1er et 3 septembre, biiodure de mercure 1mgr,50. Le 1er septembre, le cobaye pèse 405 gramme est le 13 octobre 450 grammes. Tous les examens du sang faits du 29 août 1907 au 15 février 1908, sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 21 novembre le cobaye pèse 547 grammes-

Cobaye 6. — P = 460 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 18 août, trypan. non rares. P = 500 grammes. Atoxyl 1cgr,50. — 19. Les trypan. ont disparu ; atoxyl 1cgr,50. — Les 20, 22 et 24 août, biiodure de mercure 1mgr,50. — Le 28 août, les trypan. n'ont pas reparu, on fait cependant un second traitement. Le 28, atoxyl 1cgr,50 ; le 29, 1 centigramme. Les 31 août, 2 et 5 septembre, biiodure de mercure 1mgr,50. — Tous les examens du sang faits jusqu'au 2 octobre, sont négatifs. Le 6 septembre, le cobaye pèse 380 grammes. — 18 septembre, gangrène de plusieurs doigt des pattes postérieures. Amaigrissement marqué. — Le 26, le cobaye ne pèse plus que 300 grammes.

Le cobaye est trouvé mort le 4 octobre. La rate est petite, normale. Le foie et les reins ont l'aspect normal. La muqueuse stomacale n'est pas altérée, mais les fibres musculaires, blanchâtres, paraissent atteintes de dégénérescence. Le myocarde est blanchâtre et, sur des coupes histologiques, il est facile de constater l'existence d'une myocardite diffuse interstitielle. Les poumons sont à l'état normal.

Il ne paraît pas douteux que l'animal ait succombé à une intoxication mercurielle.

Cobaye 7. — P = 405 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 26 août, trypan. non rares; atoxyl 1cgr,50. — 27, les trypan. ont disparu. P = 430 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 28 et 30 août et 1er septembre, biiodure de mercure 1mgr,50. — 3 septembre, les trypan. n'ont pas reparu, néanmoins on fait un second traitement : atoxyl 1cgr,50. — 5 septembre, atoxyl 1 centigramme. — 7, 9 et 11 septembre, biiodure de mercure 1mgr,50. Le 11 septembre, le cobaye pèse 450 grammes. — Malgré le double traitement, une rechute se produit le 23 septembre. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

B. *Cobayes traités par l'atoxyl et le sublimé.*

Cobaye 8. — P = 490. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 8 août trypanosomes non rares; atoxyl 1 centigramme. — 9. Les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — Les 11 et 13 août, sublimé 2 milligrammes. — Du 10 au 16 août, les examens du sang sont négatifs. Le 16, on note une gangrène qui s'étend à plusieurs doigts des pattes postérieures. — 17 août, rechute. — 18 et 19, trypan. nombreux. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 9. — P = 475 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 8. Trypan. non rares. P = 510 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 9. Les trypan. ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Les 11 et 13 août, 2 milligrammes de sublimé. — Du 10 au 17 août, l'examen du sang est négatif. Le 17, le cobaye pèse 515 grammes. — 18 août, rechute, trypan. nombreux. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 10. — P = 490. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 21 août. Trypan. nombreux. Atoxyl 1 cgr,50. — 22. Les trypan. ont disparu. P = 485 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — Les 23 et 25, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. — Du 23 au 30 août, l'examen du sang est négatif. — 31 août, rechute, trypan. rares; atoxyl 1 cgr,50. — 1er septembre, les trypanosomes ont disparu. — 2, atoxyl 1 centigramme. — Les 5 et 8 septembre, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. Du 2 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au commencement d'octobre on note encore une agglutination légère des hématies. Perte par gangrène des doigts des membres postérieurs. Le 1er octobre, le cobaye pèse 385 grammes. Du 11 au 21 novembre l'agglutination des hématies est légère ou nulle. Le 16 novembre, le cobaye pèse 427 grammes.

Cobaye 11. — P = 390 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 25 août, trypanosomes nombreux. Atoxyl 1cgr,50. — 26. Les trypanosomes ont disparu. P = 430 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 27 et 29, sublimé 2 milligrammes. — 30 août. L'animal est malade, il a beaucoup maigri, il ne pèse plus que 335 grammes. — 31. P = 305 grammes. Mort d'hémorragie intestinale par intoxication mercurielle. Les trypanosomes n'avaient pas reparu.

Cobaye 12. — P = 455 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. —

20 août, trypanosomes non rares. Atoxyl 1cgr,50. — 21. Les trypanosomes ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Les 22 et 24 août, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. — L'animal maigrit rapidement à la suite de ces injections; le 22, il pèse 470 grammes et le 25 il ne pèse plus que 360 grammes. Le 25, il meurt d'hémorragie intestinale, par intoxication mercurielle. Les trypanosomes n'avaient pas reparu.

C. *Cobayes témoins, traités par l'atoxyl seul.*

Sur 12 cobayes témoins, pesant de 400 à 600 grammes, plusieurs sont morts, rapidement intoxiqués, après avoir reçu 6 centigrammes, 4 centigrammes, 3 centigrammes et même 2cgr,50 d'atoxyl en deux doses à 24 heures d'intervalle. La plupart de ces cobayes ont présenté de l'hématurie et, à l'autopsie, on a noté une congestion rénale. Dans les autres cas, il y a eu des rechutes. Nous donnerons seulement les 3 observations suivantes.

Cobaye 13. — P = 480. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 22 août, trypanosomes nombreux. P = 545 grammes. Atoxyl 1cgr,50. — 23, les trypanosomes ont disparu: atoxyl 1 centigramme. — 24. P = 520 grammes. — 28, rechute, trypanosomes très rares; atoxyl 1cgr,50. — 29, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 8 septembre, 2e rechute, trypanosomes non rares. — 10, trypan. non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 14. — P = 385 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 12 août, trypanosomes nombreux. P = 450 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 13, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 20 août, rechute, trypanosomes rares. — 21, trypanosomes nombreux: atoxyl 1cgr,50. — 22, les trypanosomes ont disparu. P = 505 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 28 août, 2e rechute, trypanosomes rares. — 1er septembre, trypanosomes non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 15. — P = 490. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 11 août, trypanosomes nombreux; P = 525 grammes; atoxyl 1 centigramme. — 12, les trypanosomes ont disparu: atoxyl 1 centigramme. — 20 août, rechute, trypanosomes rares. — 21, trypanosomes nombreux: atoxyl 1cgr,50. — 22, les trypanosomes ont disparu. P = 540 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — Tous les examens du sang faits du 22 août au 16 septembre sont négatifs. — 17 septembre, 2e rechute, trypanosomes très rares. — 19, trypanosomes non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

En résumé, sur 7 cobayes traités par l'atoxyl et le biiodure de mercure, 2 ont guéri (cob. 1 et cob. 5), 2 ont eu deux rechutes après lesquelles le mode de traitement a été changé, 3 sont morts intoxiqués pendant ou après le deuxième traite-

tement; chaque traitement comportait deux doses d'atoxyl à 24 heures d'intervalle et deux à trois doses de biiodure de mercure à 48 heures d'intervalle.

Sur 5 cobayes traités par l'atoxyl et le sublimé, un seul a guéri, 2 ont eu des rechutes après lesquelles le mode de traitement a été changé, 2 sont morts intoxiqués à la suite du 1er traitement. Chaque traitement comportait : 2 injections d'atoxyl à 24 heures d'intervalle et 2 injections de sublimé à 48 heures d'intervalle.

Au total, sur 12 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et un sel de mercure, il n'y a eu que 3 guérisons.

Ce résultat est beaucoup moins satisfaisant que celui qui a été obtenu par Moore, Nierenstein et Todd chez les rats, mais il est supérieur à celui qu'on obtient avec l'atoxyl seul. Aucun des cobayes témoins traités par l'atoxyl seul n'a guéri.

Les doses efficaces d'atoxyl et de mercure sont voisines des doses toxiques, ce qui constitue un grave inconvénient; d'autre part, les injections de biiodure de mercure et surtout celles de sublimé exposent à des accidents locaux, mais on pourrait se mettre à l'abri de ces derniers accidents en donnant les sels de mercure à l'intérieur.

Si imparfaits que soient les résultats obtenus dans nos expériences, nous pensons comme Nierenstein qu'il y aura lieu d'expérimenter dans la trypanosomiase humaine la médication mixte par l'atoxyl et les sels de mercure.

II

VALEUR CURATIVE ET PRÉVENTIVE DE L'ACIDE ARSÉNIEUX

Nous avons employé le plus souvent une solution d'acide arsénieux à 1 0/00 préparée suivant les indications de Lœffler et Rühs. Un gramme d'acide arsénieux pur, vitreux, est dissous à chaud dans 10 c. c. de solution normale de soude. On neutralise l'alcalinité avec 10 c. c. d'une solution normale d'acide chlorhydrique et on complète à 1000 c. c. avec de l'eau distillée. La solution renferme 1 gramme d'acide arsénieux libre et 0gr,585 de chlorure de sodium; l'acidité évaluée au moyen de la phénol-phtaléine est la même que celle de la solution d'acide arsénieux à 1 0/00, connue sous le nom de liqueur de Boudin.

La présence d'une petite quantité de chlorure de sodium ne paraît pas justifier la dénomination de *Neue Lösung* que Lœffler et Rühs ont donnée à cette solution. Quelques expériences comparatives faites avec la solution de Lœffler et Rühs et avec la liqueur de Boudin nous ont montré que l'action des deux solutions sur les trypanosomes était la même.

Lœffler et Rühs ont employé la solution d'acide arsénieux tantôt en injections intrapéritonéales, tantôt en la faisant ingérer, ce qui est facile pour les cobayes. On place entre les mâchoires une planchette trouée; par le trou, on introduit, jusque dans l'estomac, une petite sonde en gomme; on injecte dans la sonde la quantité voulue de la solution; enfin, on pousse un peu d'eau ou d'air de façon à ce que une partie de la solution ne reste pas dans la sonde.

Par la voie intra péritonéale, d'après Lœffler et Rühs, la dose toxique est de 8 à 10 milligrammes, la dose curative de 4^{mgr},50 par kilogramme de cobaye. Par ingestion, la dose toxique est de 12 à 18 milligrammes, la dose efficace de 6 milligrammes par kilogramme. Il résulte de nos observations que les doses de 4 à 5 milligrammes par kilogramme, en injections intrapéritonéales, et de 8 milligrammes par kilogramme, par ingestion, sont souvent mortelles.

En même temps que nous soumettions des cobayes à cinq traitements successifs, à cinq jours d'intervalle, suivant la formule de Lœffler et Rühs, nous essayions de faire prendre à d'autres cobayes les doses d'acide arsénieux à 24 ou 48 heures d'intervalle.

L'expérience nous a montré qu'il y avait intérêt à commencer par de faibles doses; les cobayes acquièrent vite une accoutumance au médicament qui permet d'augmenter les doses.

Des essais de traitement faits sur des chiens n'ont pas donné de résultats favorables; les chiens vomissent la solution d'acide arsénieux qui est introduite dans l'estomac avec une sonde œsophagienne, et les injections intraveineuses donnent lieu facilement à des accidents d'intoxication.

A. — *Cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 5 jours.*

Sur 7 cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous

les 5 jours, d'après la méthode préconisée par Lœffler et Rühs. 4 sont morts intoxiqués au cours du traitement ; nous croyons inutile de donner leurs observations ; nous nous bornerons à donner celles des trois autres cobayes.

Cobaye 1. — Inoculé de Surra le 8 août 1907. — 7 sept. Trypan. nombreux. P = 575 grammes. Acide arsénieux 5 milligrammes (en ingestion ; solut. de Lœffler). — 8 sept. Les trypanosomes ont disparu. — 12. P = 545 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 17. P = 535 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 22. P = 515 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 27. P = 540 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — Du 8 septembre au 24 octobre, tous les examens du sang sont négatifs. — 25 octobre (28 jours après la dernière prise d'acide arsénieux), rechute, trypanosomes très rares. — 27. Trypan. non rares. L'animal est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 2. — 17 juillet 1907, inoculé de Surra (forme bénigne, Mbori). — 10 sept. Trypan. non rares. P = 550 grammes. Ac. arsénieux 5 milligrammes (ingestion, sol. de Lœffler). — 11. Les trypan. ont disparu. — 15. P = 495 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 20. P = 505 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 25. P = 525 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 30. Ac. arsénieux 3mgr,5. — Du 11 septembre au 29 octobre, tous les examens du sang sont négatifs, mais l'agglutination globulaire persiste. — 30 octobre (30 jours après la dernière prise d'ac. arsénieux), rechute, trypan. très rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 3. — P = 320 grammes. Inoculé le 8 septembre 1907 avec le trypan. du Togo (virus fort de Martini). — 21 sept. Trypan. très nombreux. P = 325 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — 23. Les trypan. ont disparu. — 26. P = 335 grammes. Ac. arsénieux 2 milligr. — 1er oct. P = 375 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes. — 2. P = 375 grammes. Rechute, trypan. très rares. — L'animal est soumis à un traitement plus intensif par l'acide arsénieux, il meurt de perforation de l'estomac le 18 octobre.

B. — *Cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 2 à 3 jours ou tous les jours.*

Trois cobayes ont été traités par ingestion d'acide arsénieux à doses croissantes tous les 2 à 3 jours ; nous avons remarqué que les doses fortes données d'emblée étaient mal supportées, tandis que chez les animaux ayant reçu déjà quelques doses faibles ou moyennes, on observait une tolérance bien marquée pour l'acide arsénieux.

Cobaye 4. — Infecté de Surra, traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure, a une rechute le 23 septembre 1907. — 5 octobre, trypan. nombreux. P = 555 grammes. Ac. arsénieux 3 milligrammes (ingestion). —

Le 7, les trypan. ont disparu. P = 535 grammes. Ac. arsénieux $3^{mgr},5$. — 9. P = 555 grammes. Ac. arsénieux $4^{mgr},5$. — 11. Acide arsénieux 5 milligrammes. — 13. P = 520 grammes. Ac. arsénieux 6 milligrammes. Du 7 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. Le 10 novembre, le cobaye pèse 565 grammes et le 27 novembre, 610 grammes.

Cobaye 5. — Inoculé de Surra le 27 septembre 1907. — 19 octobre. Trypan. nombreux. P = 630 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — 21. Trypan. très rares. P = 655 grammes. Ac. arsénieux $3^{mgr},5$. — 22. Les trypanosomes ont disparu. — 23. P = 665 grammes. Ac. arsénieux 4 milligrammes. — 25. P = 665 grammes. Ac. arsénieux $4^{mgr},5$. — 27. Ac. arsénieux 5 milligrammes. — 29. P = 645 grammes. Ac. arsénieux $6^{mgr},5$. — 30. P = 620. — Du 22 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. — Le 18 novembre, le cobaye pèse 735 grammes et le 27 novembre, 780 grammes.

Cobaye 6. — Inoculé de Surra, le 7 septembre 1907, le cobaye s'est infecté et il a été soumis à un premier traitement arsénical. Rechute le 17 octobre. — 18 octobre. Trypan. nombreux. P = 420 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — Le 19, les trypan. ont disparu. — 21. P = 465 gr. Ac. arsénieux $2^{mgr},5$. — 23. P = 495 grammes. Ac. arsénieux 3 milligr. — 25. P = 465 grammes. Ac. arsénieux $3^{mgr},5$. — 27. P. = 490 grammes. Ac. arsénieux $4^{mgr},5$. — Du 19 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 575 grammes, et le 29 novembre, 655 grammes.

Sur 4 cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les jours, 1 est mort intoxiqué après 4 ingestions, 2 ont eu des rechutes après 5 ingestions; les trypanosomes ont reparu 11 jours et 26 jours après la dernière ingestion; le dernier cobaye, qui n'avait reçu que 4 doses parce qu'il avait présenté des contractures le 4e jour, a rechuté 25 jours après la dernière ingestion.

C. — *Cobayes traités par les injections intrapéritonéales d'acide arsénieux.*

Cobaye 7. — Inoculé de Surra le 26 juillet 1907. — 31 août. Trypan. nombreux. P = 675 grammes. Ac. arsénieux 3 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 1er sept. Les trypan. ont disparu. — 3. P = 545 gr. — 5. P = 495. Le cobaye a donc beaucoup maigri à la suite d'une seule injection. — 8. P = 530 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 9. P = 485. Du 1er au 9 septembre, tous les examens du sang sont négatifs. Le cobaye est trouvé mort le 10 septembre. A l'autopsie : léger épanchement séreux dans le péritoine. Congestion du foie. Rate et poumons normaux.

Cobaye 8. — Inoculé de Surra le 1er août 1907. — 2 sept. Trypan. nom-

breux. P = 390 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intra-péritonéale). — Le 3 sept., les trypan. ont disparu. — 4 sept. P = 310 gr. — Le 6 septembre, le cobaye est trouvé mort. Du 3 au 6, les examens du sang ont été négatifs. P = 290 grammes. A l'autopsie : pas de lésions péritonéales ; rate de volume normal. Les poumons sont congestionnés.

Cobaye 9. — Inoculé le 23 août 1907 avec le virus fort du Togo. — 3 sept. Trypan. nombreux. P = 435 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (en injection intrapéritonéale). — Le 5, les trypan. ont disparu. P = 415 grammes. — 6. P = 375 grammes. — 8. P = 405 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 12. P = 355 grammes — 13. P = 360 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 18. P = 295 grammes. L'animal ayant beaucoup maigri, le traitement est suspendu. — Du 5 au 29 septembre, tous les examens du sang sont négatifs. — 30, rechute (17 jours après la dernière injection) ; le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

D. — *Emploi préventif de l'acide arsénieux.*

Lœffler et Rühs disent avoir constaté l'action préventive de l'acide arsénieux contre le Nagana ; leurs expériences ont été faites sur des cobayes ; ces observateurs vont jusqu'à comparer les effets de l'acide arsénieux contre les trypanosomiases à ceux de la quinine contre le paludisme.

L'acide arsénieux ou l'arsénite de soude avaient été expérimentés déjà à plusieurs reprises au point de vue de la prévention des trypanosomiases et les résultats n'avaient pas été favorables.

Bruce a conclu de ses recherches, faites au Zoulouland, que l'acide arsénieux était tout à fait inutile comme prophylactique du Nagana. Des chevaux et un âne saturés d'arsenic ont contracté rapidement le Nagana quand on les a conduits dans des régions à tsétsé. Chez un chien, l'emploi préventif de l'arsenic est resté également sans effet [1].

L'un de nous a fait, avec M. Mesnil, des expériences sur l'emploi préventif de l'acide arsénieux dans le Nagana qui sont résumées comme il suit : « Nous avons constaté, comme Bruce, que l'arsenic n'avait pour le Nagana aucune vertu préventive. Les animaux traités préventivement par l'arsenic s'infectent aussi facilement et aussi rapidement que les autres et l'évolution de la maladie n'est pas modifiée [2]. »

1. D. Bruce, *Rapports sur le Nagana*, 1895-1896.

2. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris 1904, p. 175.

Si peu encourageants que fussent les résultats antérieurs, nous avons voulu répéter les expériences de Lœffler et Rühs en nous servant de la solution d'acide arsénieux préconisée par ces observateurs et en l'administrant comme eux, à l'intérieur et aux mêmes doses.

D'après Lœffler et Rühs, il faudrait employer des doses de 6 milligrammes à 10 milligrammes par kilogramme de cobaye, *per os*, pour prévenir l'infection, et le médicament devrait être donné tous les 5 jours. Nous pensons que l'administration répétée du médicament ne s'impose que lorsqu'il y a des infections répétées ou que, du moins, on peut craindre celles-ci. En tous cas, Lœffler et Rühs donnent les observations de deux cobayes qui, après avoir reçu, *per os*, 8 milligrammes à 10 milligrammes d'acide arsénieux par kilogramme, ont été inoculés de Nagana 2 jours après l'ingestion, non répétée, du médicament, et qui ne se sont pas infectés (cobayes 871 et 872).

Nous sommes arrivés à des résultats différents, comme le prouvent les expériences suivantes. Nous avons expérimenté, il est vrai, avec des trypanosomes appartenant à d'autres espèces que le trypanosome du Nagana employé par Lœffler et Rühs ; mais, comme il s'agit de trypanosomes moins virulents que *Tr. Brucei*, nous pensons que cette différence ne peut donner que plus de poids aux résultats que nous avons obtenus [1].

Cobaye 10. — Un cobaye du poids de 430 grammes reçoit le 6 septembre, par voie stomacale (au moyen d'une sonde œsophagienne), 4 c. c. de la solution d'acide arsénieux à 1 0/0, soit 9^{mgr},3 par kilogramme.

Le 7 septembre, le cobaye qui a bien supporté la solution arsénicale est inoculé, sous la peau, avec le trypanosome du Surra.

Les examens du sang du cobaye faits du 12 au 18 septembre sont négatifs.

19 septembre. On trouve dans le sang du cobaye des trypanosomes très rares qui se multiplient les jours suivants.

Le cobaye est alors utilisé pour une expérience de traitement.

Cobaye 11. — Un cobaye du poids de 320 grammes reçoit le 6 septembre, *per os*, 3 c. c. de la solution arsénicale, ce qui représente 9^{mgr},2 d'acide arsénieux par kilogramme.

Le 8 septembre, c'est-à-dire 48 heures après l'ingestion d'acide arsénieux, le cobaye est inoculé sous la peau avec un trypanosome du Togo (virus fort de Martini).

1. A. Laveran et A. Thiroux, *Acad. des Sciences*, 30 septembre 1907.

Du 10 au 15 septembre, l'examen du sang du cobaye est négatif.

Le 16 septembre, on note, à l'examen du sang, des trypanosomes rares dont le nombre augmente les jours suivants.

Le cobaye est utilisé ensuite pour une expérience de traitement.

L'incubation a été de 12 jours chez le premier cobaye et de 8 jours chez le second; il est possible que chez le premier cobaye, l'évolution du parasite ait été retardée un peu par l'acide arsénieux.

Un cobaye du poids de 520 grammes auquel on avait fait ingérer le 6 septembre 5 c. c. de la solution arsénicale, soit 9^{mg},5 d'acide arsénieux par kilog., est mort intoxiqué ; on peut donc dire que les doses données aux cobayes 10 et 11 (9^{mg},3 et 9^{mg},2 par kilog.) sont des doses très fortes, très voisines des doses toxiques. L'inoculation des trypanosomes pathogènes faite 24 heures ou 48 heures après l'ingestion de ces doses très fortes d'acide arsénieux ayant déterminé l'infection des animaux en expérience, on peut, croyons-nous, en conclure que les propriétés préventives de l'acide arsénieux sont nulles ou bien faibles ; trop faibles en tous cas pour être utilisées dans la pratique.

Les observations suivantes prouvent, mieux encore que les précédentes, l'inefficacité de l'emploi préventif de l'acide arsénieux, car les cobayes avaient reçu, par ingestion, 5 doses fortes d'acide arsénieux avant d'être inoculés avec *Tr. dimorphon* et ils se sont infectés. Les cobayes ont été inoculés, l'un 2 jours, l'autre 3 jours après avoir reçu la dernière dose d'acide arsénieux.

Cobaye 12. — P = 405 grammes. Les 27 et 29 septembre, 1er, 3 et 5 octobre 1907, le cobaye reçoit (par ingestion) 2^{mgr},5 d'acide arsénieux, soit 5 doses fortes de ce médicament, correspondant à 6^{mgr},1 par kilogramme d'animal. L'animal supporte très bien ce traitement préventif qu'on peu qualifier d'énergique ; le 5 octobre, il pèse 445 grammes. Le 7 octobre, le cobaye est inoculé avec *Tr. dimorphon*. — 19 octobre (12 jours après l'inoculation), on note l'existence de trypanosomes dans le sang. Le cobaye est utilisé pour une expérience de traitement.

Cobaye 13. — P= 400 grammes. Les 27, 28 et 30 septembre et les 1er et 2 octobre, le cobaye reçoit (par ingestion) 2^{mgr}.5 d'acide arsénieux, soit 5 doses fortes en 6 jours. — Le 5 octobre, le cobaye pèse 465 grammes ; il a donc très bien supporté ce traitement préventif énergique. Le cobaye est inoculé le 5 octobre, sous la peau, avec *Tr. dimorphon*. — Les examens du

sang, faits du 10 au 18, sont négatifs. — 19 octobre, (14 jours après l'inoculation) on note l'existence de trypanosomes très rares dans le sang du cobaye. — Du 20 au 28, trypanosomes rares. Le 28 l'animal est trouvé mort ; il a été tué par un autre cobaye.

En résumé, sur 7 cobayes infectés avec *Tr. Evansi* ou avec d'autres trypanosomes, traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 5 jours, d'après les règles tracées par Lœffler et Rühs, 4 sont morts intoxiqués et, chez les 3 autres, il y a eu rechute. Dans deux cas, la rechute a été assez tardive ; elle ne s'est produite que 28 et 30 jours après la dernière ingestion d'acide arsénieux.

Il nous semble très probable que si Lœffler et Rühs disent avoir obtenu des résultats beaucoup meilleurs, c'est qu'ils n'ont pas suivi assez longtemps les animaux en expérience. Pour qu'on puisse affirmer qu'un cobaye infecté de Nagana ou de Surra et traité, est guéri, il est nécessaire que les trypanosomes aient disparu depuis 50 à 60 jours, après cessation du traitement. Lœffler et Rühs paraissent avoir rangé, au nombre des cobayes guéris, des animaux du sang desquels les trypanosomes avaient disparu depuis moins longtemps [1].

Bien que Lœffler et Rühs aient tiré de leurs expériences des conclusions trop favorables à l'emploi exclusif de l'acide arsénieux, leur travail n'en présente pas moins un réel intérêt ; il ressort, en effet, de leurs observations que l'administration de l'acide arsénieux est aussi efficace par la voie digestive que par la voie hypodermique qui, pour beaucoup de préparations arsénicales, présente de graves inconvénients. On verra plus loin que nous avons utilisé avec succès la voie digestive pour l'administration de composés tels que le trisulfure d'arsenic et l'iodure d'arsenic qui, employés par la voie hypodermique, donnent lieu souvent à des accidents locaux.

Nous avons diminué chez quelques cobayes l'intervalle de 5 jours entre les prises d'acide arsénieux, dans l'espoir qu'un traitement plus continu serait plus efficace.

Sur 7 cobayes traités par ingestion à 1, 2 ou 3 jours d'intervalle, un cobaye est mort intoxiqué, 3 cobayes ont eu des rechutes 11, 25 et 26 jours après la dernière ingestion d'acide

1. Les observations très succinctes, publiées par Lœffler et Rühs à la fin de leur mémoire, ne nous renseignent pas suffisamment à cet égard.

arsénieux, 3 cobayes paraissent guéris (cob. 4, 5, 6). Ce sont les ingestions à doses croissantes, tous les deux jours. (5 ingestions) qui ont donné les meilleurs résultats (3 cobayes guéris sur 3 traités par cette méthode). Ces succès montrent qu'il y a avantage à maintenir l'organisme pendant une dizaine de jours sous l'influence de l'acide arsénieux et à rapprocher les doses du médicament comme nous l'avons déjà dit [1]. Les ingestions faites tous les jours sont trop toxiques ; elles ont donné des résultats très peu satisfaisants.

Sur 3 cobayes traités par les injections intrapéritonéales, 2 sont morts intoxiqués, le troisième a eu une rechute 17 jours après la dernière injection.

Les expériences citées plus haut montrent que l'acide arsénieux n'exerce pas sur les trypanosomiases l'action préventive qui lui a été attribuée par Lœffler et Rühs et qu'il ne doit pas être conseillé pour cet objet.

La médication atoxylique donnant des résultats satisfaisants, mais presque toujours incomplets dans le traitement des trypanosomiases, et l'emploi de cette médication présentant des dangers quand on élève les doses (accidents oculaires), nous avons pensé qu'on pourrait associer à l'atoxyl un autre composé arsénical, également actif sur les trypanosomes, mais n'ayant pas, pour l'homme ou pour l'animal, les mêmes effets toxiques. Grâce à cette association, on pourrait, pensions-nous, agir plus énergiquement sur les trypanosomes sans exposer l'homme ou l'animal en traitement à des accidents d'intoxication.

Il n'est pas douteux que l'atoxyl a, sur l'organisme de l'homme ou des animaux, des effets bien différents de ceux que produit l'acide arsénieux par exemple.

L'acide arsénieux donné à forte dose détermine des accidents du côté des voies digestives : vomissements, coliques, diarrhée; quand la mort n'est pas trop rapide, on observe à l'autopsie de la dégénérescence graisseuse du foie.

L'intoxication par l'atoxyl est caractérisée surtout par des symptômes nerveux : ataxie, mouvements de manège chez le rat et le cobaye, perte de la vue chez l'homme et par une congestion rénale qui se traduit souvent, chez le cobaye, par des

1. *Académie des Sciences*, 30 septembre 1907.

hématuries. Les accidents gastro-intestinaux ont rarement une intensité comparable à celle qui caractérise l'empoisonnement par l'acide arsénieux; la dégénérescence graisseuse du foie est d'ordinaire peu marquée.

On pouvait donc espérer de trouver une préparation arsénicale dont l'action trypanolytique s'ajouterait à celle de l'atoxyl, sans que les effets toxiques des deux médicaments sur l'organisme s'additionnassent exactement.

Déjà Lœffler et Rühs avaient expérimenté une solution d'arsénite de soude et d'atoxyl (parties égales), mais cette préparation leur avait paru trop toxique et ils y avaient rapidement renoncé.

Nous avons expérimenté les associations médicamenteuses qui suivent : atoxyl et trisulfure d'arsenic, atoxyl et iodure d'arsenic, atoxyl et acide arsénieux.

III

TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES PAR L'ATOXYL ET LE TRISULFURE D'ARSENIC

Nous avons employé le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections hypodermiques ou à l'intérieur et les pilules de trisulfure d'arsenic.

M. Malfitano a mis obligeamment à notre disposition du trisulfure d'arsenic colloïdal préparé en faisant agir de l'hydrogène sulfuré sur une solution d'acide arsénieux; la solution contenait $9^{mgr},2$ de trisulfure d'arsenic par centimètre cube. Cette préparation étant très irritante et déterminant des eschares sèches, étendues, quand on l'injectait sous la peau ou dans les muscles, nous avons été conduits à l'étendre d'eau, d'abord au cinquième, puis au dixième. Nous donnerons le nom de solution A à la solution diluée au cinquième. Cette solution injectée sous la peau ou dans les muscles des cuisses, chez des cobayes ou chez des rats, provoque souvent encore des accidents locaux (eschares, abcès); la solution diluée au dixième est au contraire presque toujours bien supportée en injections dans les muscles.

La dose de trisulfure que peut supporter un cobaye, en injection sous-cutanée, est de 2 c. c. 5 de la solution A, soit $4^{mgr},5$ de trisulfure d'arsenic. Des doses supérieures sont toxiques, elles déterminent un amaigrissement rapide suivi de

mort et, à l'autopsie, on constate une dégénérescence graisseuse du foie.

Des rats de 150 à 200 grammes ont supporté des doses de 1 c. c. 5 à 2 c. c. de la solution A.

Par ingestion, on peut donner d'emblée aux cobayes des doses de trisulfure d'arsenic colloïdal trois fois plus fortes qu'en injections hypodermiques, soit 7 c. c. 5 de la solution A, représentant 13^{mgr},5 de trisulfure d'arsenic et l'on peut augmenter la dose jusqu'à 10 et 12 c. c. 5 de la solution A, représentant 18 et 22 c. c. 5 de trisulfure d'arsenic. Le trisulfure colloïdal non dilué a pu être donné sans inconvénient à l'intérieur; un cobaye a pris ainsi, par ingestion, sans qu'il ait présenté de symptômes morbides, des doses de 18 mgr. de trisulfure à 2 jours d'intervalle.

L'orpiment a été employé à l'intérieur sous forme de pilules ayant la composition suivante :

Orpiment précipité..................................	0 gr. 225
Gomme arabique pulvérisée........................	Q. S.
Poudre de réglisse..................................	
Eau..	

Pour 50 pilules de 4^{mgr},5 chaque.

Il est facile de faire prendre les pilules aux cobayes; à l'aide d'une pince recourbée dont les mors sont remplacés par des cupules, on introduit les pilules à la base de la langue; elles sont dégluties; l'animal les mâche quelquefois, il est très rare qu'il les rejette; pour être en mesure de remédier à cet accident, il suffit de mettre le cobaye en observation pendant quelques minutes après l'ingestion. On peut aussi introduire un peu d'eau dans la bouche du cobaye après avoir donné la dernière pilule; on provoque ainsi des mouvements de déglutition. La gomme arabique qui fond toujours dans le tube digestif est préférable aux extraits qui se résinifient et peuvent devenir insolubles en vieillissant. 2 pilules suffisent pour faire disparaître les trypanosomes du sang des cobayes infectés. On peut en donner 3 d'emblée, mais nous pensons que, pour le trisulfure d'arsenic, comme pour l'acide arsénieux, il vaut mieux commencer par des doses qui sont toujours bien supportées et qui ne provoquent pas une diminution de poids. Dans les cas où le poids

s'abaisse sensiblement, on est d'ailleurs amené à diminuer les doses. Nous pensons qu'on doit donner d'abord, à des cobayes de 400 à 600 grammes, 2 pilules, soit 9 mgr. d'orpiment : on peut ensuite augmenter la dose et aller jusqu'à 4 pilules, soit 18 mgr. d'orpiment.

Le traitement mixte par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic a été fait de trois façons différentes : 1° injections simultanées d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal ; 2° injections sous-cutanées d'atoxyl alternant avec des injections sous-cutanées ou intra-musculaires de trisulfure d'arsenic colloïdal ; 3° injections sous-cutanées d'atoxyl alternant avec les ingestions de pilules d'orpiment.

Les injections d'atoxyl et les ingestions d'orpiment (5 de chaque espèce) ont été faites en général à 48 heures d'intervalle. L'intervalle a été un peu augmenté quand on observait une forte baisse de poids.

A. *Animaux traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, en injections hypodermiques.*

Sur 6 cobayes traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, en injections hypodermiques, 2 sont morts rapidement intoxiqués par une ou deux doses de 2 c. c. 5 de trisulfure d'arsenic ; un cobaye a eu une rechute à la suite de laquelle il a été soumis au traitement mixte ; enfin 3 cobayes ont guéri ; nous donnerons seulement les observations de ces derniers.

Cobaye 1. — P = 560 grammes. Le 16 août 1907, le cobaye est inoculé de Surra. — 26 août, trypan. non rares, P = 530 grammes. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — Le 27 août, les trypanosomes ont disparu et jusqu'au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Le 4 septembre, le cobaye pèse 515 grammes et, le 18 novembre, 600 grammes. Au mois de novembre, on n'observe plus l'agglutination des hématies. Le 14 novembre, le cobaye met bas 3 petits qui s'élèvent bien. — Le 7 janvier 1908, le cobaye pèse 630 grammes.

Cobaye 2. — P = 630 grammes ; inoculé de Surra le 16 août 1907. — 22 août, trypan. très nombreux. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — 23 août, les trypanosomes ont disparu. — Du 23 août 1907, au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. L'animal maigrit beaucoup à la fin du mois d'août. Le 29 août, il pèse 530 grammes ; malgré l'amaigrissement, on fait une deuxième injection de 2 c. c. 5 de la solution A. — Les injections qui ont été faites sous la peau de l'abdomen

donnent lieu à des eschares qui guérissent lentement. — 15 septembre. Le cobaye a encore maigri, il ne pèse plus que 350 grammes, mais le poids remonte rapidement à partir de cette date. Le 20 septembre, le cobaye pèse 390 grammes; le 26, 435 grammes; le 14 octobre, 490 grammes; le 2 novembre, 550 grammes; le 27 novembre, 605 grammes; le 13 décembre, 670 grammes; le 23 décembre, 680 grammes, et le 4 janvier 1908, 665 grammes.

Cobaye 3. — P = 620 grammes. Inoculé de Surra le 16 août 1907. — 26 août, trypan. non rares. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — 27, les trypan. ont disparu. — 2 septembre. Les trypanosomes n'ont pas reparu. On fait une nouvelle injection de 2 c. c. 5 de la solution A. — Le cobaye maigrit. Le 4 septembre, il pèse 480 grammes; le 14, 500 grammes; le 27, 415 grammes; le 7 octobre, le poids est remonté à 510 grammes. — Du 3 septembre au 6 novembre, tous les examens du sang sont négatifs, l'animal peut être considéré comme guéri de la trypanosomiase quand il est trouvé mort le 7 novembre.

Autopsie. La rate, très petite, ne pèse que 0gr, 35 ce qui montre bien que l'animal n'était plus sous l'influence de la trypanosomiase. La mort est due à une épiploïte dont le point de départ est une myosite consécutive aux injections de trisulfure colloïdal faites dans l'épaisseur de la paroi abdominale. Les reins sont un peu congestionnés. Le foie est normal, ainsi que le cœur et les poumons. — On peut conclure de cette autopsie que les injections de trisulfure colloïdal ne doivent pas être faites sous la peau de l'abdomen. Les lieux d'élection nous paraissent être les masses musculaires des régions fessières.

Trois rats infectés de Surra, traités par les injections sous-cutanées de trisulfure d'arsenic colloïdal ont eu des rechutes,

B. *Cobayes traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion.*

4 cobayes ont été traités par ce procédé; ils ont reçu de 5 à 10 c. c. 5 de la solution A, ou 2 c. c. à 2 c. c. 5 de la solution non étendue correspondant à 10 et à 12 c. c. 5 de la solution A. Chez 3 cobayes, il y a eu rechute 22 jours et 23 jours (dans 2 cas) après l'administration de la dernière dose du médicament; le quatrième cobaye a eu également une rechute, mais il a guéri après un deuxième traitement plus énergique que le premier. Nous donnerons seulement l'observation de ce dernier cobaye.

Cobaye 4. — P = 480. Inoculé de Surra le 9 août 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl seul. — 7 septembre, rechute. — 10. Trypan. non rares, P = 535 grammes. Solution A, 7 c. c. 5 (en ingestion). — 11, les trypanosomes ont disparu. — 15, solution A, 5 c. c. — 20. P = 530 grammes. Solution A, 5 c. c. — 25. P = 610 grammes. Solution A, 5 c. c. — 30. P =

605 grammes. Solution A, 5 c. c. — Du 11 septembre, au 7 octobre, tous les examens du sang sont négatifs. — 8 octobre, rechute, trypan. rares. Le cobaye est soumis à un traitement plus énergique. Les 9, 11, 13, et 15, il reçoit, par ingestion, 2 c. c. de la solution de trisulfure colloïdal concentrée, correspondant à 10 c. c. de la solution A, et le 17, 2 c. c. 5 de la même solution, correspondant à 12 c. c. 5 de la solution A. — Du 10 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin du mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 555 grammes ; le 27 novembre, 665 grammes ; le 10 décembre, 680 grammes; le 24 décembre, 785 grammes et le 6 janvier 1908 850 grammes.

C. *Cobayes traités par le trisulfure d'arsenic en ingestion, sous forme pilulaire.*

Sur 3 cobayes traités, 1 cobaye a eu une rechute 23 jours après la dernière ingestion d'orpiment, et a été soumis ensuite à un traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic ; les deux autres cobayes ont guéri ; voici leurs observations résumées.

Cobaye 5. — P = 650 grammes. Inoculé de Surra, dans le péritoine, le 14 septembre 1907. — 18. Trypan. nombreux. P = 740 grammes ; orpiment, 13^{mgr}, 5, en 3 pilules. — 19, les trypan. ont disparu. — 23. P = 680 grammes ; orpiment 4^{mgr}, 5 (1 pilule). — 28. P = 660 grammes ; orpiment, 9 milligrammes, (2 pilules). — 3 octobre. P = 680 grammes ; orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 8. P = 710 grammes; orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — Du 19 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, il n'y a plus agglutination des hématies. Le 18 novembre, le cobaye pèse 740 grammes ; le 25 décembre, il pèse 745 grammes; le 19 décembre, le cobaye met bas 4 petits qui s'élèvent bien.

Cobaye 6. — P = 495 grammes ; inoculé de Surra, dans le péritoine, le 14 septembre. — 17. Trypan. non rares ; orpiment, 13^{mgr}, 5 en 3 pilules, — 20, les trypan ont disparu. — 22. P = 475 grammes ; orpiment, 4^{mgr}, 5 (1 pilule). — 27 P = 485 grammes ; orpiment, 9 milligrammes. (2 pilules). — 2 octobre. P = 550 grammes ; orpiment, 9 milligrammes. — 7. P = 560 grammes ; orpiment, 13^{mgr}, 5 (3 pilules). — Du 20 septembre 1907, au 15 février 1908, les trypanosomes ne reparaissent pas dans le sang et au mois de novembre les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 665 grammes ; le 29 novembre, 710 grammes, le 10 décembre, 680 grammes; le 25 décembre, 710 grammes; et le 7 janvier 1908, 750 grammes.

En résumé, sur 13 cobayes traités par le trisulfure d'arsenic seul, 2 ont été intoxiqués, 5 ont eu des rechutes, 6 ont guéri.

C'est l'orpiment administré sous forme de pilules qui a donné les meilleurs résultats (2 guérisons sur 3 cobayes traités).

D. *Cobayes traités par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections simultanées.*

Sur 3 cobayes traités par ce procédé, un est mort intoxiqué, un autre a eu une rechute 12 jours après avoir subi le traitement et a été soumis à un autre mode de traitement, le troisième a guéri. Nous donnerons seulement l'observation de ce dernier cobaye.

Cobaye 7. — P = 390gr. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure. — 2 septembre, rechute. — 3, trypan. nombreux P = 515 grammes, Atoxyl 1 centigramme et sol. A 2 c. c. en injections simultanées. Le trisulfure d'arsenic colloïdal est injecté dans les muscles des cuisses. — 4 septembre, les trypan. ont disparu — 6. P = 445 grammes. — 13, P = 390 grammes. Le poids remonte ensuite; il atteint, le 8 octobre, 515 grammes, le 2 novembre, 540 grammes, et le 16 novembre, 575 grammes. — Du 4 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus, à la suite de l'injection de trisulfure d'arsenic, il y a eu gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures. Les plaies sont complètement cicatrisées. — Le 13 décembre, le cobaye pèse 630 grammes; le 23 décembre, le poids est le même. Le 4 janvier 1908, le cobaye pèse 660 grammes.

E. *Cobayes et rats traités par des injections alternatives d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal.*

Deux cobayes ont été traités par ce procédé et ils ont guéri tous les deux. Chaque cobaye a reçu deux injections d'atoxyl et deux injections de trisulfure d'arsenic colloïdal.

Cobaye 8. — P = 490 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Traité d'abord par l'atoxyl et le sublimé et, après une rechute, par le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections. — 29 août, rechute, trypan. rares. P = 510 grammes. Solution A, 2 c. c. 5 — 30, les trypan. ont disparu. — 3 septembre, atoxyl, 2cgr. — 8, solution A, 2 c. c. 5, gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures. — 13, atoxyl, 2cgr, 20. P = 560 grammes. — Du 30 août 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 16 novembre, le cobaye pèse 530 grammes; le 27 novembre, 545 grammes; le 13 décembre, 550 grammes; le 23 décembre, 560 grammes et le 15 janvier 1908, 570 grammes.

Cobaye 9. — P = 545 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Traité d'abord par l'atoxyl seul. — 17 août, rechute. — 19, trypan. nou

rares, P = 640 grammes. Injection intra-artérielle de 1 c. c. de la solution A. — 20, les trypan. ont disparu. — 28 août, rechute, trypan. rares. P = 665 grammes, solution A, 2 c. c. 5. — 29, les trypan. ont disparu. — 3 septembre, atoxyl, 2 centigrammes. — 8, solution A, 2 c. c. 5. — 13, atoxyl, 2 centigrammes. — 18, gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures, occasionnée par les injections de la solution A. — Du 29 août 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs, à la fin de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 16 novembre, le cobaye pèse 522 grammes; le 27 novembre, 445 grammes; le 13 décembre, 500 grammes; le 23 décembre, 490 grammes et le 4 janvier 1908, 545 grammes.

De 3 rats traités par les injections alternatives d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal, 2 sont guéris, le troisième a été atteint d'une paraplégie qui n'a pas permis de continuer le traitement. Un quatrième rat qui, traité d'abord par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, avait eu une rechute, a guéri après un traitement mixte.

Nous donnons ci-dessous les observations des 3 rats guéris.

Contrairement à ce que nous avons observé chez les cobayes, nous avons vu des rats infectés de trypanosomes guérir après un traitement par l'atoxyl seul (3 injections, voire même après une seule dose forte); c'est là une mauvaise condition pour étudier l'action des médications mixtes dont l'atoxyl fait partie, aussi avons-nous renoncé rapidement à nous servir des rats pour cette étude.

Rat 1. — P = 222 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. Le 30 août, l'examen du sang révèle l'existence de trypanosomes non rares. Injection dans les muscles d'une des cuisses de 2 c. c. de la solution de trisulfure d'arsenic. — 1er septembre, examen du sang négatif. P = 216 grammes. — 2 au 5 septembre, examens négatifs. Le 5 septembre, 2 centigrammes d'atoxyl. — 6 au 10, examens négatifs. — Le 10 septembre, injection de 2 c. c. de la solution de trisulfure d'arsenic. — Du 11 au 15, examens négatifs. — Le 15, atoxyl 2 centigrammes. — Du 16 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang du rat sont négatifs. A partir du 23 septembre, l'agglutination des hématies qui avait été bien marquée jusque-là ne se fait plus. Le 17 septembre, le rat pèse 187 grammes, il a donc maigri sous l'influence du traitement. Le 29 octobre, le poids est remonté à 197 grammes; le 2 novembre, à 207 grammes; le 26 décembre, à 210 grammes et le 8 janvier 1908, à 214 grammes.

Rat 2. — P = 103 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. — 1er septembre, trypanosomes non rares. P = 111 grammes. Solution de trisulfure d'arsenic, 1 c. c. 25. — Du 2 au 5 septembre, examens négatifs. Le 5, atoxyl, 1 centigramme. — Du 6 au 10, examens du sang négatifs. Le 10, solution

de trisulfure d'arsenic, 1 c. c. 25. — 15 septembre, les trypanosomes n'ont pas reparu, atoxyl, 1cgr, 25.

L'agglutination des hématies, bien marquée jusqu'au 14 septembre, est légère du 15 au 30 septembre, elle fait défaut à partir du 1er octobre. Le 3 octobre, le rat pèse 110 grammes; le 25, 127 grammes; le 2 novembre 130 grammes: le 26 décembre, 132 grammes et le 8 janvier 1908, 135 grammes. A la date du 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu dans le sang du rat.

Rat 3. — P = 115 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. — 30 août, trypan. non rares. Injection intra-musculaire, dans une cuisse, de 1 c. c. de la solution de trisulfure. — 31 août, les trypan. ont disparu. — Du 1er au 4 septembre, l'examen du sang est négatif. — 5 septembre, trypan. rares. Injection de 1 c. c. 25 de la solution de trisulfure. — 6. Les trypanosomes ont disparu. — 10 septembre, atoxyl, 1 c. c. 25. — 14 septembre, trypan. rares; injection de 1 c. c. 50 de la solution de trisulfure. — 15, les trypan. ont disparu. — 16, atoxyl, 1cgr,50. — Le 19 septembre, le rat pèse 103 grammes; le 3 octobre, 121 grammes et le 25 octobre, 132 grammes. Le 30 octobre, les trypan. n'ont pas reparu. L'agglutination des hématies très nette au début du traitement est notée comme nulle ou très légère dans tous les examens faits à partir du 20 octobre. A la date du 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu dans le sang du rat.

F. *Cobayes traités par l'emploi alternatif de l'atoxyl en injections sous-cutanées et de l'orpiment en pilules.*

5 cobayes traités par ce procédé ont guéri tous les 5. Voici le résumé des observations.

Cobaye 10. — P = 490 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Le cobaye est traité par l'atoxyl seul et, après une rechute, par des injections sous-cutanées de trisulfure d'arsenic colloïdal. — 28 septembre, nouvelle rechute. — 9 octobre, trypan. nombreux, atoxyl, 2 centigrammes. — 10. Les trypan. ont disparu. P = 595 grammes. — 11. Orpiment, 9 milligrammes 2 pilules). — 13. P = 550 grammes. Atoxyl, 1cgr,5. — 15. P = 555 grammes, orpiment, 13mgr,5 (3 pilules). — 17. Atoxyl, 1cgr,5. — 19. P = 485 grammes. Le traitement est interrompu à cause de la baisse de poids. — 22. P = 490 grammes. — 23. P = 500 grammes. — 24. P = 530 grammes. Orpiment, 9 milligrammes. — 26. P = 550 grammes. Atoxyl 1cgr,5. — 28. P = 570 grammes. Orpiment, 13mgr,5. — 30. Atoxyl, 2 centigrammes. — 1er novembre. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). Du 10 octobre 1907, au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 580 grammes; le 29 novembre, 725 grammes et le 10 décembre, 850 grammes. Dans les derniers jours de décembre, le cobaye met bas deux petits qui s'élèvent bien. — Le 7 janvier, le cobaye pèse 685 grammes.

Cobaye 11. — Inoculé le 30 septembre avfoec le virus rt de Martin (Togo). — 9 octobre, trypan. non rares. P = 400 grammes. Atoxyl, 2 cneti-

grammes. — 10. Les trypan. ont disparu. — 11. P = 430 grammes. Orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 13. P = 405 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 15. P = 445 grammes. Orpiment, $13^{mgr},5$ (3 pilules). — 17. P = 430 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 19. P = 425 grammes. Orpiment, $13^{mgr},5$. — 20. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 22. P = 445 grammes. Orpiment, $13^{mgr},5$. — 25. P = 445 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 27. P = 455 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — Du 10 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le cobaye pèse 520 grammes le 18 novembre ; 565 grammes le 29 novembre ; 650 grammes le 10 décembre et 750 grammes le 25 décembre.

Cobaye 12. — Inoculé de Surra le 4 octobre 1907. — 21 octobre, trypan. nombreux. Atoxyl, $1^{cgr},5$ — 23, les trypan. ont disparu. P = 465 grammes. Orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 25. P = 425 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 27. Orpiment, $13^{mgr},5$ (3 pilules). — 29. P = 460 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 31. P = 445 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 2 novembre. P = 440 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 4. P = 435 grammes. Orpiment, $22^{mgr},5$ (5 pilules). — 6. P = 410 grammes. — 8. P = 390 grammes. L'animal ayant beaucoup maigri, le traitement est suspendu. — 11. P = 420 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. 13. P = 465 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 23 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 410 grammes ; le 27 novembre, 435 grammes ; le 13 et le 24 décembre, 500 grammes ; le 6 janvier 1908, 515 grammes.

Cobaye 13. — Inoculé de Surra le 9 août 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure et, après une rechute, par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion. Le 28 octobre, nouvelle rechute, trypan. rares. P = 480 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},5$. — 29, les trypan. ont disparu. — 30. P = 490 grammes. Orpiment, $13^{mgr},5$ (5 pilules). — 1er novembre. P = 510 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 3. P = 500 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 5. P = 485 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 7. P = 515 grammes. Orpiment, $22^{mgr},5$ (5 pilules). — 8 et 11 novembre. P = 490 grammes. — 12. Atoxyl, 2 centigrammes. — 14. P = 505 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — 16. P = 510 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 18. P = 470 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 29 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Les hématies ne s'agglutinent pas. Le 18 novembre, le cobaye pèse 470 grammes ; le 27 novembre, 520 grammes ; le 10 décembre, 550 grammes ; le 24 décembre, 620 grammes ; le 6 janvier 1908, 620 grammes.

Cobaye 14. — Inoculé de Surra le 14 septembre 1907, dans le péritoine, et traité d'abord par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion. — 31 octobre, rechute, trypan. rares. — 2 novembre, atoxyl, 2 centigrammes. — 3, les trypan. ont disparu. — P = 650 grammes. Orpiment, $13^{mgr},5$ (3 pilules). — 4. P = 655 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 5. P = 660 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 6. P = 660 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 7. P = 670 grammes. Orpiment, $22^{mgr},5$ (5 pilules). — 8. P =

655 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 9. P = 630 grammes. Le traitement est interrompu à cause de l'amaigrissement. — 12. P = 655 grammes. — 13. P = 655 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — 14. P = 660 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 15. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 3 novembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin du mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 27 novembre, le cobaye pèse 700 grammes; le 10 décembre, 720 grammes; le 24 décembre, 800 grammes et le 6 janvier 1908, 820 grammes.

En résumé, si nous laissons de côté les animaux traités par des injections simultanées d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal, injections qui sont peu actives quand on réduit notablement les doses, et trop toxiques quand on emploie les doses efficaces de chacun des médicaments, nous voyons que le traitement alternatif par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic a donné, chez les cobayes et chez les rats, d'excellents résultats. Les 7 cobayes traités par ce procédé, ont guéri tous les 7, et il s'agissait souvent de cobayes qui, traités d'abord par d'autres procédés, avaient eu des rechutes, ce qui constitue une condition défavorable pour le traitement des trypanosomiases.

Nous rappelons qu'aucun des cobayes traités par l'atoxyl seul, n'a guéri; nous avons jugé inutile de répéter, pour chaque médication mixte, ces expériences de traitement avec l'atoxyl seul.

Sur trois rats traités d'emblée par ce procédé, 2 ont guéri. Un rat traité d'abord par le trisulfure d'arsenic seul et qui avait eu une rechute a guéri également par l'emploi alternatif de l'atoxyl et du trisulfure d'arsenic.

L'orpiment à l'intérieur a donné des résultats plus satisfaisants que le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections sous cutanées; ces injections sont douloureuses, irritantes et elles provoquent souvent des abcès ou des gangrènes. Plusieurs cobayes, après des injections faites dans les muscles des cuisses, ont eu des gangrènes des doigts des pattes postérieures.

IV

TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES PAR L'ATOXYL ET L'IODURE D'ARSENIC

L'iodure d'arsenic a été employé en solution, par la voie hypodermique ou par ingestion, en pilules.

La solution d'iodure d'arsenic à 1 pour 500 dont nous nous sommes servis est irritante ; injectée sous la peau, à la dose de 4 à 5 c. c., elle provoque souvent des eschares assez étendues ; injectée dans les muscles des cuisses, elle est mieux supportée, mais là encore elle donne lieu souvent à des abcès, à des eschares et à la gangrène des doigts des pattes postérieures. On évite en partie ces accidents quand on a soin de cautériser la peau au point d'injection, de façon à ne pas entraîner de microbes, et en employant bien entendu une solution stérile.

Un cobaye de 300 à 500 grammes supporte 1 centigramme d'iodure d'arsenic en injection sous-cutanée ; cette dose qui déjà détermine de l'amaigrissement chez certains cobayes ne semble pas devoir être dépassée.

2 cobayes ont reçu 2 injections d'atoxyl alternant toutes les 48 heures avec 2 injections d'iodure d'arsenic ; 3 autres ont reçu 2 fois, à 5 ou 7 jours d'intervalle, une injection d'atoxyl suivie, 48 heures après, d'une injection d'iodure d'arsenic.

Les accidents locaux provoqués par les injections sous-cutanées d'iodure d'arsenic nous ont conduits à essayer ici, comme pour le trisulfure d'arsenic, de la voie stomacale. Nous avons employé des pilules préparées d'après la formule suivante :

Iodure d'arsenic	0 gr. 50
Gomme arabique Poudre de réglisse	Q. S.

Pour 100 pilules de 5 milligrammes chaque.

Un cobaye de 300 à 500 grammes supporte bien, par la voie stomacale, une dose d'iodure d'arsenic double de celle qui peut être injectée sous la peau, soit 2 centigrammes. Quand les cobayes ont déjà ingéré 1 ou 2 doses, on peut aller jusqu'à 2cgr,5 mais les animaux perdent de leur poids et il paraît indiqué de n'atteindre cette dose qu'en fin de traitement.

Les animaux soumis au traitement atoxyl — iodure d'arsenic en pilules ont reçu 5 injections d'atoxyl alternant avec les ingestions de pilules d'iodure d'arsenic.

A. *Cobayes traités par les injections hypodermiques alternatives d'atoxyl et d'iodure d'arsenic.*

Sur 6 cobayes ainsi traités, 2 paraissent guéris ; les 4 autres

ont eu des rechutes. Nous donnerons seulement les observations des 2 cobayes guéris.

Cobaye 1. — Inoculé avec *Tr. dimorphon* le 7 octobre 1907. — 28 octobre. Trypan. rares. P = 565 grammes. Atoxyl, 1^{gr}, 50. — 29, les trypan. ont disparu. — 30. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 1er novembre. P = 465 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 3. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. Du 29 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 5 novembre, le cobaye pèse 465 grammes; le 18, 505 grammes; le 29, 627 grammes; le 10 décembre, 630 grammes et le 25, 690 grammes; le 7 janvier 1908, 700 grammes.

Cobaye 2. — Inoculé de Mbori le 31 juillet 1907. — 26 octobre. Trypan. non rares. Iodure d'arsenic, 1 centigramme en injection dans les muscles des cuisses (solution 1 p. 500). Le 26 octobre, le cobaye pèse 435 grammes. — 27. Les trypan. ont disparu. — 4 novembre. Sans attendre la rechute qui paraît très probable, d'après d'autres observations, à la suite d'une seule injection d'iodure d'arsenic, le cobaye est soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic. Atoxyl, 2 centigrammes. — 6. P = 440 grammes. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 12. P = 440 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 14. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 15. P = 410 grammes. — 18. P = 380 grammes. Amaigrissement notable par conséquent. Eschare au point d'inoculation de la solution d'iodure d'arsenic (paroi abdominale). Du 27 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le cobaye pèse, le 27 novembre, 415 grammes; le 25 décembre, 500 grammes et, le 7 janvier 1908, 510 grammes.

B. *Cobayes traités par les injections hypodermiques d'atoxyl et par les pilules d'iodure d'arsenic.*

Sur 4 cobayes ainsi traités, 1 paraît guéri, 2 paraissent être en bonne voie de guérison, mais le traitement n'est pas terminé depuis assez longtemps pour qu'on puisse conclure; le 4e a eu une rechute, 12 jours après la dernière prise de pilules, et il est mort de trypanosomiase. Nous donnerons seulement l'observation du cobaye qui paraît guéri.

Cobaye 3. — Inoculé le 23 septembre 1907 avec *Tr. soudanense*. Le cobaye traité d'abord par l'acide arsénieux seul, a une rechute après laquelle il est soumis au traitement mixte par les injections hypodermiques d'atoxyl et les pilules d'iodure d'arsenic de 5 milligrammes chaque. — 9 novembre. Trypan. rares. Atoxyl, 2 centigrammes. — 11. Les trypan. ont disparu 4 pilules d'iodure d'arsenic. — 13. P = 500 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 15. P = 490 grammes. 5 pilules d'iodure d'arsenic. — 18. P = 450 grammes. Atoxyl, 1^{gr},50. — 20. P = 470 grammes. 4 pilules d'iodure d'arsenic. — 22. P = 450 grammes. Atoxyl, 1^{gr}, 50. — 24. P = 440 grammes. 4 pilules. — 26. P = 440 grammes. Atoxyl, 1^{gr}, 50. — 28. P = 440 grammes

4 pilules. — Du 11 novembre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 10 décembre, le cobaye pèse 520 grammes et le 24, 610 grammes. A partir du 20 novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. — 6 janvier 1908, le cobaye pèse 680 grammes.

En résumé, abstraction faite des 2 cobayes traités par l'atoxyl et les pilules d'iodure d'arsenic dont le traitement n'est pas terminé depuis assez longtemps pour qu'il soit possible de conclure, nous voyons que, sur 8 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic, 3 paraissent guéris; les autres ont eu des rechutes.

V

Traitement des trypanosomiases par l'atoxyl et l'acide arsénieux.

Sur 3 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'acide arsénieux, 1 a succombé au cours du traitement à une congestion pulmonaire, les 2 autres paraissent guéris. L'atoxyl a été donné en injections hypodermiques; l'acide arsénieux, en solution à l'intérieur (solution à 1 0/00 de Lœffler et Rühs); l'intervalle entre les injections d'atoxyl et les ingestions d'acide arsénieux était de 48 heures; les cobayes 1 et 2 dont nous donnons ci-dessous les observations ont reçu 5 injections d'atoxyl et ont ingéré 5 fois de l'acide arsénieux.

Cobaye 1. — Inoculé de Surra le 17 septembre 1907. — 4 octobre. P = 355 grammes. Trypan. nombreux. Atoxyl, 1^{cgr},5 (en injection hypodermique). — 6. Les trypan. ont disparu. Acide arsénieux, 2 milligrammes (par ingestion). — 8. P = 365 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},50. — 10. P = 380 grammes. Acide arsénieux, 2 milligrammes. — 12. P = 375 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},50. — 14. P = 395 grammes. Acide arsénieux 2 milligrammes. — 16. P 500 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 18. P. = 400 grammes. Acide arsénieux, 2^{mgr},5. — 20. P = 375 grammes. Atoxyl 1^{cgr},5. — 22. P = 395 grammes. Acide arsénieux, 2^{mgr},5. — Du 6 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 18 novembre, le cobaye pèse 440 grammes; le 29, 560 grammes; le 10 décembre, 595 grammes et le 25 décembre, 645 grammes. Pendant le mois de décembre, il n'y a plus d'agglutination des hématies. — Le 7 janvier 1908, le cobaye pèse 690 grammes.

Cobaye 2. — Le cobaye qui a été inoculé de Surra, présente, le 14 octobre, des trypanosomes non rares. P = 495 grammes. Atoxyl, 1^{cgr}, 50 en injection hypodermique. — 15 octobre. Les trypanosomes ont disparu. — 16. P = 500 grammes. — Acide arsénieux, 3 milligrammes (solution de Lœffler et

Rühs, par ingestion). — 18. P. = 460 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},50$ — 20. P = 455 grammes. Acide arsénieux, 3 milligrammes. — 22. P. = 450 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},50$. — 24. Acide arsénieux, 3 milligrammes. — 26. P = 435 grammes. Atoxyl, $1^{cgr},50$. — 28. P = 465 grammes. Ac. arsénieux, 3 milligrammes. — 30. P = 435 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 1er novembre, P = 435 grammes. Ac. arsénieux, 4 milligrammes. — Du 15 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Le 18 novembre, le cobaye pèse 520 grammes et le 27, 500 grammes. Le 13 décembre, il pèse 520 grammes et le 24, 550 grammes. — 6 janvier 1908, le cobaye pèse 575 grammes.

Les résultats du traitement mixte par l'atoxyl en injections hypodermiques et l'acide arsénieux en solution, par la voie gastrique, ont été en somme satisfaisants (2 guérisons sur 3 animaux traités).

CONCLUSIONS

1° Le traitement mixte par l'atoxyl et les sels de mercure (biiodure ou sublimé) a donné, chez les cobayes infectés de trypanosomes, des résultats médiocres (3 guérisons sur 12 cobayes traités), supérieurs cependant à ceux fournis par l'atoxyl seul.

2° Aucun des cobayes traités par l'atoxyl seul n'a guéri.

3° L'acide arsénieux employé seul a donné des résultats variables suivant le mode d'administration. Les cobayes traités par l'acide arsénieux en ingestion tous les 5 jours (5 doses), suivant la méthode préconisée par Lœffler et Rühs, sont morts ou ont eu des rechutes ; 3 cobayes traités par l'acide arsénieux donné tous les deux jours à doses croissantes (5 doses) ont guéri. Les injections intra-péritonéales de la solution d'acide arsénieux ont donné de mauvais résultats.

4° L'acide arsénieux, alors même qu'il était administré à forte dose, et à doses répétées, n'a montré aucune activité pour la prévention des trypanosomiases chez le cobaye.

5° Le trisulfure d'arsenic employé seul en solution colloïdale (en injections hypodermiques ou par ingestion), ou en ingestion sous forme de pilules, a donné 6 guérisons sur 13 cobayes traités. L'orpiment en pilules (1 à 4 pilules de $4^{mgr},5$ pour un cobaye de 500 grammes en moyenne ; 5 doses à 2 ou 5 jours d'intervalle) a fourni les résultats les plus satisfaisants (2 guérisons sur 3 cobayes traités).

6° C'est l'emploi alternatif de l'atoxyl en injections hypoder-

miques et du trisulfure d'arsenic (solution colloïdale en injections hypodermiques ou pilules d'orpiment) qui a donné la proportion la plus forte de guérisons. Sur 7 cobayes traités par cette méthode, il y a eu 7 guérisons. Il s'agissait souvent de cobayes qui, traités antérieurement par d'autres méthodes, avaient eu des rechutes, ce qui est une mauvaise condition au point de vue du traitement.

Les médicaments ont été donnés alternativement, à 24 ou à 48 heures d'intervalle; l'atoxyl à la dose de 2 centigrammes (5 doses) et l'orpiment à celle de 9 à 18 milligrammes (5 doses), pour des cobayes de 500 grammes environ.

L'emploi de l'orpiment par ingestion est préférable à celui de la solution colloïdale de trisulfure d'arsenic en injections hypodermiques, les injections produisant souvent des accidents locaux.

7° Le traitement mixte par l'atoxyl en injections hypodermiques et l'iodure d'arsenic par la voie hypodermique ou à l'intérieur, en pilules, a donné 3 guérisons sur 8 cobayes traités, résultats de beaucoup inférieurs à ceux du traitement par l'atoxyl et l'orpiment.

8° Le traitement mixte par l'emploi alternatif, à 48 heures d'intervalle, de l'atoxyl en injections hypodermiques et de l'acide arsénieux à l'intérieur (atoxyl 1cgr,50 à 2 centigrammes et acide arsénieux, 2 à 4 milligrammes; 5 doses de chaque) a réussi 2 fois sur 3, mais la toxicité de l'acide arsénieux dont les doses efficaces sont voisines des doses toxiques, constitue un grave inconvénient de ce procédé.

9° Il serait évidemment prématuré de tirer de nos expériences, faites sur des cobayes infectés avec des trypanosomes autres que *Tr. gambiense*, des conclusions en ce qui concerne le traitement de la trypanosomiase humaine; mais, étant donné que le traitement mixte par l'atoxyl et l'orpiment nous a permis d'obtenir 7 fois sur 7 la guérison des cobayes infectés, nous pensons qu'il y aura lieu de poursuivre des recherches dans cette voie. C'est croyons-nous sur l'homme lui-même, sur les malades atteints de trypanosomiase, que la nouvelle méthode devra être expérimentée [1]. L'emploi de l'atoxyl combiné à celui

1. Plusieurs malades à notre connaissance sont déjà soumis à la médication mixte atoxyl-orpiment.

de l'orpiment ne présente pas de difficultés et il sera moins dangereux que celui de l'atoxyl seul, s'il permet d'obtenir la guérison sans employer des doses très fortes et souvent répétées de ce médicament.

Il faudra rechercher jusqu'à quelle dose on peut prescrire, sans inconvénients, l'orpiment. Les arsénicophages de Styrie commencent, dit-on, par des doses de 2 à 3 centigrammes et ils arrivent à ingérer jusqu'à 20 à 25 centigrammes d'orpiment [1]. D'après nos recherches, l'accoutumance aux arsénicaux est rapide, au moins chez le cobaye. A un homme adulte, nous pensons qu'on pourrait donner d'abord 3 centigrammes d'orpiment (en pilules) et arriver assez rapidement à faire ingérer 10 à 15 centigrammes.

1. Beaugrand, Art. Arsénicophages in *Diction. encyclop. des Sc. méd.*

Une Conception générale des anticorps et de leurs effets.

2° Les anticorps des albuminoïdes et des cellules.

Par MM. M. NICOLLE et G. ABT.

Ce travail ne fait que continuer le précédent; aussi entrerons-nous d'emblée dans le plein du sujet. Rappelons, simplement, qu'il s'agit toujours des *anticorps artificiels*.

ALBUMINOCOAGULINES ET ALBUMINOLYSINES

Les précipitines représentent, sans conteste, les albuminocoagulines. Après avoir résumé leurs caractères principaux, nous établirons l'existence d'anticorps opposés, les albuminolysines, qui ne sont autres que les « sensibilisatrices de Gengou », dont le rôle a été totalement méconnu.

I

Les précipitines jouissent du pouvoir de condenser les divers albuminoïdes animaux (humeurs, extraits cellulaires), végétaux et microbiens (filtrats et extraits bactériens, notamment). *In vitro*, elles se fixent sur les antigènes correspondants (en suivant les lois communes aux divers anticorps), les coagulent et, partant, les précipitent dans les conditions de mélange et de concentration saline convenables. Lorsqu'on fait agir sur les albuminoïdes soit la chaleur, soit certains réactifs chimiques, on voit que la précipitabilité diminue progressivement et finit par disparaître, tandis que le pouvoir fixateur se conserve plus longtemps. On ne saurait s'en étonner, car il va de soi qu'un antigène, rendu artificiellement moins coagulable, peut *consommer* beaucoup d'anticorps sans que sa condensation augmente au point de permettre la genèse d'un précipité.

La coagulation des albuminoïdes par les précipitines se trouve liée au pouvoir fixateur et à la coagulabilité de ceux-ci d'une part, à la « force » des sérums d'autre part. Plus un sérum

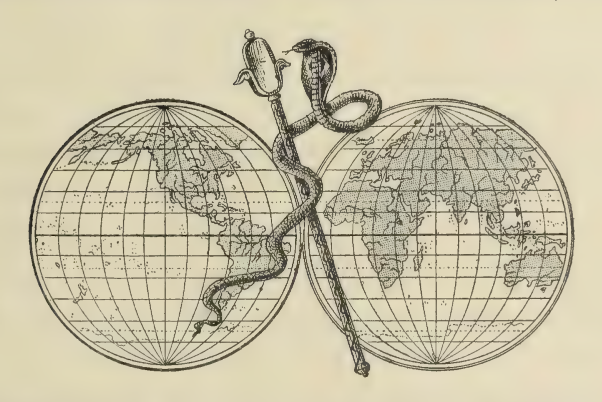
Paraît en Février 1908

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

SIÈGE DE LA SOCIÉTÉ : INSTITUT PASTEUR, PARIS



ABONNEMENTS A LA LIBRAIRIE MASSON ET Cie

120, boulevard Saint-Germain, Paris.

PRIX DE L'ABONNEMENT : France, 14 fr.; Union postale, 16 fr.

LE BULLETIN PARAITRA DIX FOIS PAR AN

après chaque séance de la Société, et formera chaque année un volume d'au moins 500 pages.

Les personnes qui ne peuvent assister aux séances et qui désirent donner communication de leurs travaux à la Société, doivent envoyer leurs manuscrits aux Secrétaires généraux, Institut Pasteur, 25, rue Dutot, Paris.

La pathologie exotique, depuis quelques années surtout, s'est acquis, par de mémorables découvertes, la place qu'elle mérite dans la science. Chaque jour, de nouveaux matériaux viennent s'ajouter à l'édifice. Médecins, hygiénistes, ingénieurs, naturalistes

concourent à doter les pays intertropicaux de l'organisation sanitaire qui leur convient. Chaque année, des progrès sensibles se manifestent dans l'assainissement de régions considérées jusqu'alors comme des plus insalubres.

Il devient aujourd'hui indispensable, pour que le mouvement puisse s'étendre sans tâtonnements coûteux, de coordonner tous ces efforts et d'en grouper les résultats pour les faire connaître à tous dès qu'ils sont obtenus. La Société de pathologie exotique n'a pas d'autre but.

Elle n'entend pas borner son action à l'étude de la pathologie humaine. Elle recevra toutes les communications qui lui seront adressées, qu'elles traitent, soit d'hygiène générale (assainissement, drainages, prophylaxie) ou spéciale (constructions, protection individuelle), soit des maladies animales, soit encore des parasites qui jouent un rôle dans la propagation de ces maladies ou qui peuvent en jouer un encore inconnu. Elle acceptera aussi tous les travaux de géographie médicale ou de pharmacologie. Elle accueillera en un mot tout ce qui, de près ou de loin, intéresse la pathologie exotique de l'homme ou des aninaux.

Les communications faites en séance ou envoyées aux Secrétaires généraux seront publiées dans le *Bulletin* qui paraîtra après chaque réunion.

La Société recevra aussi tous les matériaux ou échantillons qui, pour différentes raisons, ne pourront pas être étudiés sur place et se chargera, sur le désir exprimé de ses correspondants, de les faire examiner par ses membres compétents.

Il n'est pas douteux que la lecture du *Bulletin* devienne ainsi rapidement un *auxiliaire* indispensable au travail de chaque personne qui s'intéresse à l'hygiène ou à la médecine tropicale. La place laissée aux communications est assez large pour permettre un exposé suffisamment détaillé; quatre pages sont accordées aux membres, trois aux personnes étrangères à la Société. Des mémoires plus importants pourront être aussi publiés.

Le sommaire ci-dessous du premier numéro donnera une idée des matières qui seront contenues dans le *Bulletin*.

(***Voir au verso le Bulletin d'abonnement.***)

BULLETIN D'ABONNEMENT

Veuillez m'inscrire pour un abonnement au **Bulletin de la Société de Pathologie exotique** *(Année 1908).*

Ci-joint un mandat sur la poste de la valeur de **14** *francs* (1) / **16** *francs.*

Nom du Souscripteur : ....

Adresse : ....

SIGNATURE :

(1) Rayer l'un des deux chiffres, suivant que l'on habite la France ou l'Étranger. Si le souscripteur le désire, il pourra lui être présenté en France une quittance à domicile. — On s'abonne aussi par l'intermédiaire de tous les libraires.

A détacher et à envoyer à la Librairie MASSON ET Cie, 120, boulevard Saint-Germain, PARIS

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette. — 18221.

est « fort », plus il devient capable de précipiter, si on ne le dilue point trop, non seulement des antigènes voisins, mais encore des antigènes parfois assez éloignés. A mesure que l'on étend un tel sérum, la spécificité reparaît, de plus en plus étroite.

Les précipitines déterminent donc, *in vitro*, une modification physique évidente des albuminoïdes ; à cette modification succèdent, d'après nous, des changements chimiques qui ne sont jamais aussi intenses qu'*in vivo*. *In vivo*, il y fixation, coagulation (*sans précipitation*), puis destruction sous l'influence des lysines. La fixation au sein de l'organisme est démontrée par la baisse immédiate du pouvoir précipitant, chez les sujets traités qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène.

II

Voici maintenant, selon nous, comment on doit se représenter les albuminolysines. *In vitro*, elles se fixent sur les albuminoïdes homologues (même altérés) et, grâce au pouvoir activant des compléments qu'on leur associe, les « dissolvent » et en libèrent des poisons, auxquels nous donnons le nom d'*endotoxines vraies* (la libération est ordinairement fort limitée *in vitro* et ne s'accompagne, d'ailleurs, d'aucun phénomène appréciable aux yeux). Lorsqu'on fait agir sur les albuminoïdes soit la chaleur, soit certains réactifs, la « solubilité » diminue peu à peu, mais moins que le pouvoir fixateur (il est certain, par exemple, que les extraits bactériens de Wassermann et Bruck, qui avaient conservé intact ce pouvoir fixateur *tout en devenant imprécipitables*, étaient loin de posséder leur « solubilité » originelle).

La lyse des albuminoïdes se trouve liée au pouvoir fixateur et à la « solubilité » de ceux-ci d'une part, à la « force » des sérums d'autre part. Plus un sérum est fort, plus il devient capable de « dissoudre » non seulement les antigènes voisins, mais encore etc..., *comme nous venons de le voir à l'occasion des précipitines*. Les transformations d'abord physiques puis chimiques des albuminoïdes, déterminées par les albuminolysines, se montrent autrement intenses *in vivo* qu'*in vitro*. *In vivo*, il y a fixation, puis « dissolution » plus ou moins brutale, avec intoxication proportionnelle. La fixation dans l'économie est

prouvée par la baisse du pouvoir lytique, chez les sujets hypersensibles qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène — baisse que traduit *schematiquement* à nos yeux l'antianaphylaxie *quasi instantanée* des « cobayes-Th. Smith » (Besredka et Steinhardt). — Rappelons ici que, pour nous, l'action lytique est toujours précédée d'une coagulation.

Telle est notre conception des albuminolysines. On peut établir aisément, *in vitro*, la présence de ces anticorps dans le sérum des sujets hypersensibles ; on peut même, parfois, mettre en évidence la formation d'un poison plus ou moins actif. D'autre part, l'étude de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes vérifiera intégralement ce que nous avons avancé, touchant les réactions des albuminolysines *in vivo*.

La légitimité de la méthode de Bordet-Gengou a été mise hors de doute dans le travail précédent; inutile d'y revenir Passons donc, immédiatement, à l'exposé des recherches (entreprises par l'un de nous avec la collaboration du Dr Pozerski) qui démontrent la constance des lysines chez les « cobayes-Th. Smith » et chez les « lapins-Arthus ». Voici le résumé de ces recherches.

Phénomène de Th. Smith, réalisé avec le sérum de chien.—4 cobayes de taille moyenne reçoivent, dans les muscles, 1/200 de c. c. de sérum de chien (chauffé 1/2 h. à 55°). Les sérums de ces animaux, examinés par le procédé Bordet-Gengou, après 23 et 35 jours (0,3 c. c. de sérum, pour 0,05 c. c. de complément ancien), déviaient, *sans précipiter*, en présence des sérums de *chien*, de *lapin* et de *bœuf* (0,05 c. c.) ; un mélange de sérums normaux ne déviait point dans les mêmes conditions. Pour une augmentation modérée du complément, la déviation par les sérums spécifiques se maintenait intégralement *en présence du sérum de chien*, mais devenait incomplète en présence des sérums de lapin et de bœuf. — L'épreuve intracérébrale a montré la parfaite hypersensibilité de nos cobayes. 3 ont succombé très rapidement; le 4e, qui s'était remis, après avoir été très malade, est mort « sur la table », à la suite de l'injection intraveineuse de 2 c. c. de sérum de chien (chauffé), injection absolument inoffensive pour les sujets neufs.

Phénomène de Th. Smith, réalisé avec le sérum de cheval. — Une trentaine de cobayes, petits ou moyens, ayant servi au titrage du sérum antidiphtérique ou traités par 1/200 de c. c. de sérum de cheval (chauffé) et tous hypersensibles, comme l'ont démontré les épreuves intracérébrale ou intraveineuse, ont été saignés (une ou plusieurs fois) 15 jours à 2 mois 1/2 après l'injection. Déviation constante pour chaque animal (*sans précipitation*), en présence du sérum équin (absence de déviation, au contraire, de la part

des sérums normaux, dans les mêmes conditions). Trois sérums « spécifiques » ont été mis comparativement en présence des sérums de *cheval* et de *lapin* : déviation dans les 2 cas, pour 0,05 c. c. de complément. Mais, en augmentant un peu la quantité de ce complément, la déviation ne s'est pas maintenue intégralement *dans le cas du sérum de lapin.*

Phénomène d'Arthus, réalisé avec le sérum de cheval. — 8 lapins, de 600-800 grammes, ont reçu, quotidiennement, 1 c. c. de sérum équin (chauffé) dans le péritoine ; 7 n'ont manifesté aucun trouble de la santé générale jusqu'au 31e jour, le 8e a été pris de paraplégie, avec incontinence des réservoirs, après la 27e injection. Les 8 animaux ont été saignés le 31e jour et éprouvés le lendemain : 4, dont le paraplégique, sous la peau, 1 c. c. de sérum équin chauffé) ; les 4 autres, dans la chambre antérieure de l'œil (trace de sérum). Chez les premiers, œdème *énorme*, répondant au type dénommé inflammatoire par l'un de nous ; chez les seconds, violente réaction oculaire avec conjonctivite et hypopyon (rien de tel, chez les lapins témoins). — Les sérums des 8 lapins précipitaient le sérum de cheval 0,3 c. c. de sérum « spécifique » pour 0,05 c. c. d'antigène et 0,05 c. c. de complément ancien) plus ou moins abondamment et déviaient en sa présence. Pour un excès suffisant de complément, on arrivait à déterminer, avec certains sérums, un fléchissement du pouvoir fixateur, *sans rapport inverse avec l'intensité, préalablement observée, du pouvoir précipitant.*

D'autre part, les sérums « spécifiques » déviaient, à la fois, avec 0, 05 c .c. de complément, en présence des sérums de *cheval*, de *bœuf* et de *cobaye* (qu'ils précipitaient inégalement, mais le sérum de cheval toujours plus que les autres). Pour une augmentation légère du complément, on arrivait à obtenir *l'hémolyse complète en présence des sérums de bœuf et de cobaye*, alors que la déviation persistait intégralement en présence du sérum de cheval (expérience faite avec 4 des sérums spécifiques).

En résumé, le sérum des cobayes ou des lapins, hypersensible vis-à-vis d'un sérum étranger, contient toujours des albuminolysines. Le degré de spécificité de ces anticorps, *in vitro*, correspond à celui que Rosenau et Anderson ont observé, *in vivo*, dans leurs études sur le phénomène de Th. Smith.

Pour mettre en évidence les poisons libérés *in vitro* au cours de l'albuminolyse, on peut s'adresser à des antigènes déjà toxiques chez les sujets sains, mais les expériences demeurent alors peu démonstratives. Il vaut donc bien mieux opérer avec des antigènes inoffensifs au regard de l'organisme neuf, ce qui suppose l'emploi de sérums très actifs et d'albuminoïdes très « solubles ». D'où, la rareté des résultats positifs. En voici cependant un, indéniable. Vaughan et Wheeler ont réussi, comme nous le verrons, à rendre les cobayes hypersensibles

vis-à-vis de l'ovalbumine, qui les tue alors très vite, notamment par la voie péritonéale. Or, si l'on ajoute de l'ovalbumine au liquide de lavage abdominal d'un sujet qui vient de succomber ainsi, que l'on porte à l'étuve et que l'on injecte ensuite le mélange dans le ventre d'un sujet neuf, celui-ci manifestera des signes non équivoques d'empoisonnement, dus au poison vrai, libéré *in vitro*.

Ceci nous conduit à l'histoire de ces *poisons vrais* (endotoxines vraies). Depuis de longues années, Vaughan et ses élèves ont poursuivi l'étude des agents toxiques, contenus au sein des albuminoïdes et des cellules les plus divers. Ils ont posé en principe que les opérations suivantes : coagulation par l'alcool absolu ; traitement par l'éther ; dessiccation ; puis extraction (3 fois répétée) à 78° par 15-20 parties d'alcool absolu, sodé à 2 0/0 — séparent la substance des albuminoïdes et des cellules en deux fractions : l'une soluble dans l'alcool absolu et toxique, l'autre insoluble et inoffensive. La première représente le poison vrai, auquel on a affaire dans l'infection et l'hypersensibilisation naturelles ou provoquées (Vaughan laisse de côté ce qui concerne les « toxines solubles ») et dans les expériences effectuées avec les microbes morts ou les albuminoïdes. Le « poison de Vaughan » est soluble dans l'alcool absolu et dans l'eau ; il offre les caractères de précipitation des albumoses (le chlorure de platine, notamment, l'entraîne en totalité). Il doit varier fort peu d'un antigène à l'autre, car, quelle que soit son origine, les effets demeurent identiques *in vivo* et ces effets ne diffèrent point selon l'espèce animale : on a toujours affaire à un *poison du centre respiratoire, qui agit sans incubation*, par les diverses voies (sauf par ingestion, où il demeure inoffensif). Pour une dose convenable, les questions d'âge et de susceptibilité individuelle disparaissent. *Prenons, comme animal réactif, le cobaye.* Si l'on introduit une quantité mortelle de poison *dans le péritoine*, les accidents vont se dérouler en 3 stades : au bout de 5 à 10 minutes, agitation, prurit (que nous rapprocherons de celui que l'on observe si fréquemment avec les « endotoxines brutes » et au cours de la « maladie sérique »), troubles de coordination, souvent accompagnés d'une parésie qui atteint surtout les pattes posterieures — puis, hypo-

thermie (banale, rappelons-le, après les injections intrapéritonéales d'antigènes de toute espèce) et chute sur le côté — enfin, convulsions, qui annoncent fatalement la mort. Celle-ci survient, après une 1/2 heure à 1 heure, par arrêt respiratoire; le cœur continue, ensuite, à battre pendant quelques minutes. Aucune lésion, quand on examine le cadavre. Une dose non mortelle peut déterminer les phénomènes les plus graves, mais, tant que les convulsions n'apparaissent point, la guérison demeure certaine et s'accomplit rapidement; on laisse pour mort un cobaye couché sur le côté, froid et comateux, et, deux heures après, on retrouve un sujet absolument normal. Les animaux ne succombent à l'injection sous-cutanée qu'avec des quantités de poison supérieures à celles qui tuent dans le péritoine; toutefois, les accidents demeurent identiques; les 3 stades sont même mieux marqués. L'injection intraveineuse, au contraire, nécessite moins de substance active que l'injection intra-abdominale; les cobayes présentent immédiatement une dyspnée violente avec rétraction du sternum et périssent « sur la table », par arrêt consécutif de la respiration. — Les sujets hypersensibles ne se montrent pas plus vulnérables que les sujets normaux, vis-à-vis des « poisons de Vaughan ».

Tels sont les effets de la *partie soluble*, impropre à déterminer l'immunité et l'hypersensibilité contre l'antigène d'où elle provient. Le *résidu*, inoffensif, jouirait, au contraire, de ce double pouvoir, mais serait incapable, comme cela se conçoit, d'hypersensibiliser vis à-vis de lui-même, puisqu'il ne contient plus de poison.

Le savant américain a surtout étudié le *b. coli* et l'*ovalbumine*. Nous avons fait, de notre côté, depuis un an, de nombreuses recherches avec le *b. coli*, le b. tuberculeux, le sérum normal de cheval et 2 types différents de « peptones » (Witte et Defresne), ce qui nous permettra de discuter utilement la question des « poisons de Vaughan », après avoir, tout d'abord, reconnu le *haut intérêt* des recherches entreprises à Ann Arbor.

L'action de la soude en solution alcoolique, sur les albuminoïdes et les cellules, demeure assez obscure. Il est certain, comme le dit Vaughan, que l'on se rapproche des conditions d'une hydrolyse alcaline, mais, à l'hydrolyse, s'ajoute l'attaque,

plus ou moins profonde, des acides aminés et diaminés, avec départ d'hydrogène sulfuré et d'ammoniaque (aussi bien, le poison obtenu est-il acide). D'autre part, l'hydrolyse se fait moins rapidement dans l'alcool que dans l'eau et sa nature peut être différente. Le produit toxique offre incontestablement les caractères des albumoses et n'a pas été obtenu aux dépens de la peptone Defresne, dépourvue de ces substances.

La séparation, en fraction toxique non antigène et fraction inoffensive antigène, n'est pas aussi absolue que l'admet l'auteur américain. Elle semble presque complète avec le *b. coli* et l'ovalbumine; et, pourtant, Vaughan a pu immuniser le cobaye et le lapin, contre le *b. coli*, avec le poison du *b. coli* et celui de l'ovalbumine. L'attaque du b. tuberculeux nous a fourni une fraction soluble, peu toxique et hypersensibilisante vis-à-vis de la tuberculine ; et un résidu, encore moins toxique et hypersensibilisant vis-à-vis de lui-même et de la tuberculine. Par l'attaque du sérum normal de cheval, nous avons obtenu 3 fractions solubles (respectivement dans les alcools à 100°, 95° et 80°), dont une seule (celle soluble dans l'alcool à 95°) s'est montrée toxique; le résidu a pu hypersensibiliser contre lui-même et contre le sérum équin. Nous reviendrons, plus tard, sur les rapports de la toxicité et du pouvoir antigène; pour le moment, demandons-nous si les « poisons de Vaughan » sont identiques ou non aux « endotoxines vraies », libérées par les actes lytiques. *Quantitativement*, le rendement, dans le procédé chimique, apparaît comme misérable [1]; il fallait pourtant s'y attendre. Que peut-il y avoir de commun entre la technique forcément brutale, imaginée à Ann Arbor, et le jeu délicat d'une lysine? *Qualitativement*, il serait plus que téméraire, cela va sans dire, d'affirmer l'identité des produits actifs obtenus *in retorta* avec ceux qu'engendrent les anticorps. Mais nous pensons que ces produits actifs ne sont pas foncièrement différents des poisons vrais et, pour dire le fond de notre pensée, que des médicaments, efficaces contre les seconds, réussiraient vraisemblablement contre les premiers. Nous basons notre manière de voir sur *l'analogie complète et* le *caractère univoque des accidents* réalisés *d'une part* (chez les sujets sains ou hypersensibles) avec les divers « poi-

1. Il suffit de jeter les yeux sur nos expériences, pour se convaincre immédiatement que la masse des « poisons de Vaughan » est composée d'éléments inactifs.

sons de Vaughan »— *d'autre part* soit chez les sujets sains avec les endotoxines déjà nocives « normalement », soit chez les sujets hypersensibles avec les endotoxines « normalement » inoffensives (et, *a fortiori*, avec les autres), *toutes les fois que l'on se place dans les conditions d'une lyse rapide.*

Voici, maintenant, le résumé des expériences que nous avons entreprises, en suivant la technique américaine, sur le sérum de cheval et les peptones Witte et Defresne.

Étude du sérum normal de cheval. — Le sérum a été traité successivement par l'alcool et l'éther; puis, séché et soumis à l'action de l'alcool sodé, d'après le procédé de Vaughan. Seul, de tous les antigènes étudiés par nous, il a donné, par évaporation de l'alcool (neutralisé puis filtré) et en dehors d'un produit soluble à froid dans l'alcool absolu, deux produits solubles à 45° dans le même liquide, mais se précipitant à froid et pouvant être repris, respectivement, par l'alcool à 80° et l'alcool à 95°. D'où, 3 *fractions*, *solubles dans les alcools : à 100°* (10 0/0 de l'antigène — traité par l'alcool et l'éther, puis desséché); *à 95°* (6 0/0); *à 80°* (18 0/0).

Ces 3 fractions, en solution aqueuse, ont été injectées comparativement aux animaux. Voici les résultats obtenus. 1re *fraction:* inoffensive pour le cobaye, aux doses de 150 milligrammes dans le péritoine et de 20 milligrammes dans les veines. 2e *fraction :* a déterminé une intoxication grave, mais non mortelle, chez le cobaye, par injection intrapéritonéale de 150 milligrammes; a tué le même animal, en 2′, dans les veines, à la dose de 50 milligrammes. 3e *fraction :* inoffensive, comme la première. — La seconde fraction n'est pas plus toxique pour les « cobayes Th. Smith » « préparés » avec le sérum équin que pour les sujets normaux; elle ne détermine point l'hypersensibilité des cobayes, quand on administre des doses correspondant aux doses hypersensibilisantes de sérum équin.

Le *résidu* paraît inoffensif, lorsqu'on l'injecte dans le péritoine du cobaye; mais, si on introduit, quotidiennement, 20 milligrammes sous la peau des lapins, les animaux offrent des réactions anormales, à partir de la 4e séance (*phénomène d'Arthus*). — Le *residu*, injecté sous la peau du lapin, *hypersensibilise* également celui-ci *vis-à-vis du sérum de cheval*, administré par la même voie. Ainsi, 2 animaux, qui avaient reçu tous les jours 20 milligrammes de résidu, ayant été « éprouvés », le lendemain de la 12e séance, avec 2 centimètres cubes de sérum ont offert : le premier, la réaction appelée inflammatoire par l'un de nous; le second, une *nécrose aseptique*. Deux autres sujets, traités quotidiennement par la voie intrapéritonéale (20 milligrammes de résidu, chaque jour) et « éprouvés », le 13e jour, dans la chambre antérieure (avec une trace de sérum), ont manifesté une réaction marquée. — Le résidu hypersensibilise aussi le cobaye, comme le prouve l'expérience suivante. 4 animaux reçoivent 20 milligrammes de résidu dans le péritoine. Après 15 jours, un sur deux succombe à l'injection intracérébrale de 1/4 de centimètre cube de sérum équin; un sur deux succombe à l'injection intraveineuse de 2 centimètres cubes (l'autre, très malade, finit par se remettre)

— *Le sérum des cobayes et des lapins hypersensibilisés par le résidu dévie le complément en présence du sérum de cheval*, comme l'un de nous l'a établi avec Pozerski.

Etude de la peptone Witte. — Traitée par la méthode de Vaughan, elle a fourni 30 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, repris par l'eau, tuait le cobaye, dans le péritoine, en 25′ environ, à la dose de 100 milligrammes; et, dans les veines, en quelques instants, à celle de 5 milligrammes; l'ingestion s'est montrée inoffensive. Un lapin a succombé, « sur la table », après avoir reçu 60 milligrammes par la voie intraveineuse. — Le *résidu* ne jouissait point de propriétés toxiques.

Etude de la peptone Defresne. — Traitée par le procédé américain, elle a fourni 30 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, comme le *résidu*, n'a manifesté aucune toxicité.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ VIS-A-VIS DES ALBUMINOIDES

Il faut distinguer entre les *albuminoïdes toxiques* et les *albuminoïdes inoffensifs* (pour la majorité des espèces). Avec les seconds, que nous étudierons tout d'abord et principalement, on peut obtenir une hypersensibilité qui atteint parfois le plus haut degré connu et qui demeure *pure* dans certains cas ; et une immunité de nature variable, tantôt liée à la production de coagulines, tantôt due au fléchissement du pouvoir lytique acquis.

I

Les albuminoïdes inoffensifs pour l'organisme normal, tels que les sérums et l'ovalbumine, sont susceptibles de devenir toxiques pour l'organisme hypersensibilisé (mieux vaudrait dire *sensibilisé*). La preuve en est fournie par les trois syndrômes bien connus : *phénomène de Th. Smith* (Rosenau et Anderson, Otto, Besredka et Steinhardt, Vaughan), *phénomène d'Arthus* (Arthus, von Pirquet et Schick, l'un de nous), *maladie sérique humaine* (v. P. et S.) Dans le ph. de Th. Sm., une seule administration de sérum ou d'ovalbumine suffit pour hypersensibiliser les animaux, qui succombent d'ordinaire à la réinjection (« épreuve ») ou offrent tout au moins des symptômes graves (à condition que cette réinjection soit pratiquée à un moment convenable et par une voie convenable) — dans le ph. d'Arthus, l'hypersensibilité apparaît à la suite de l'administration répétée

de l'antigène — enfin, dans la maladie sérique, la première injection de sérum, *qui peut déterminer déjà des accidents*, rend l'économie hypervulnérable vis-à-vis d'une seconde intervention. Nous passons donc, par l'intermédiaire de la maladie sérique, des albuminoïdes inoffensifs aux albuminoïdes toxiques après une longue incubation ; et ceux-ci nous conduisent, à leur tour, aux albuminoïdes toxiques après une courte incubation. C'est toujours affaire de « solubilité » de l'antigène d'une part et de pouvoir lytique, normal ou acquis, de l'autre.

La production de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes inoffensifs et de l'immunité (par coagulines) qui peut l'accompagner se trouvent liées à celle des anticorps déterminants et, partant, à l'organisme, à l'antigène et aux conditions d'introduction de celui-ci. — Organisme. *L'espèce* joue un rôle prépondérant (le ph. de Th. Sm. type est propre au cobaye ; le ph. d'Arthus type se voit surtout chez le lapin et le pigeon ; la maladie sérique semble spéciale à l'homme) ; mais la *race* n'est point indifférente (les cobayes américains se montrent bien plus hypersensibilisables vis-à-vis des sérums et de l'ovalbumine que les cobayes français, comme l'ont observé Besredka et Steinhardt), ni l'*âge* (le ph. de Th. Sm. demeure moins typique chez les gros cobayes), ni le *facteur individuel* (inutile d'y insister, car il est d'observation courante). — Antigène. Selon sa *nature* et les *modifications* qu'on lui apporte, non moins que selon l'organisme en jeu, le développement des anticorps suivra un cours des plus variables. Tantôt, il y aura formation exclusive de lysine (« cobayes-Th. Sm. » traités par les sérums) tantôt apparition concomitante de coaguline » (« cobayes-Th. Sm. » traités par l'ovalbumine, « lapins-Arthus » traités par les sérums). Les travaux d'Obermeyer et Pick nous ont appris que les albuminoïdes altérés de différentes manières peuvent engendrer des anticorps différents, dont l'interaction *in vitro* revêle des faits très intéressants ; il y aurait au lieu de rechercher ce qui se passerait alors *in vivo* pour le type Arthus et le type Th. Smith. Enfin, les études de Vaughan (ovalbumine) et les nôtres (sérum de cheval) établissent que les albuminoïdes, traités par la méthode américaine, fournissent un *résidu* susceptible d'hypersensibiliser les animaux. Rien d'étonnant à cela,

puisque ce résidu représente une substance très décoagulée ; essentiellement lysogène, par conséquent, d'après les idées exposées dans le travail précédent. — Conditions d'introduction de l'antigène. Une très faible *dose* de celui-ci suffit pour permettre le ph. de Th. Sm. et se montre même préférable à des quantité tant soit peu marquées. Une seule injection de sérum rend l'homme hypervulnérable vis-à-vis du sérum équin et confère déjà nettement au lapin une sensibilité anormale vis-à-vis de ce même sérum ou d'autres albuminoïdes. On connait, d'autre part, l'influence des doses répétées sur la production du ph. d'Arthus type. La *voie d'introduction* se montre très importante dans le ph. d'Arthus, parce qu'elle se confond, dès la seconde séance, avec la *voie d'épreuve*. Cette dernière commande absolument les résultats dans le ph. de Th. Sm., quand on a affaire à des races relativement peu hypersensibilisables.

Pour bien analyser les *effets* de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes inoffensifs et de l'immunité de nature variable observée chez les animaux traités par ces substances, il convient de passer succintement en revue les 3 syndrômes déjà mentionnés.

Ph. de Th. Smith. — Les cobayes, qui ont reçu de faibles doses de divers sérums ou d'ovalbumine, réinjectés après 10-12 jours, présentent des accidents en général fort graves, souvent même mortels à bref délai. Les symptômes sont *exactement* ceux que l'on obtient avec les poisons de Vaughan (« syndrôme de Vaughan »). Il faut tenir grand compte ici, avons-nous dit, de la race à laquelle appartiennent les sujets ; les cobayes américains peuvent être tués par la voie péritonéale et même sous-cutanée, tandis que les cobayes français ne fournissent un taux élevé de mortalité que si l'on recourt à la voie intracérébrale (Besredka et Steinhardt — ou, mieux encore selon nous, à la voie intraveineuse). L'âge offre également une importance marquée, les gros animaux résistant, habituellement, à l'épreuve dans le cerveau; le fait n'est pas niable; toutefois, il suffit d'introduire l'antigène dans les veines pour déterminer la mort « sur la table ». Les sujets, qui ont reçu préalablement un sérum donné, se montrent hypersensibles à divers autres sérums, mais ne succombent point; ils succombent, ensuite, quand on les éprouve avec le sérum homologue (Rosenau et

Anderson); nos recherches *in vitro* expliquent clairement le caractère relatif de la spécificité observée dans le ph. de Th. Smith. Ajoutons que l'hypersensibililé des cobayes femelles se transmet au fœtus (R. et A., Vaughan et nous mêmes).

Besredka et Steinhardt ont étudié très minutieusement, sous le nom d'*antianaphylaxie*, l'état réfractaire qui succède aux « épreuves » non mortelles et que R. et A. avaient déjà décrit. Ils ont fait voir que les cobayes hypersensibles, remis d'une injection intracérébrale, demeuraient indifférents, pendant longtemps, à l'égard de toute nouvelle intervention. Mais il y a plus; en introduisant le sérum équin dans le péritoine avant l'épreuve intracérébrale (ne fût-ce que 1 h. 1/2 auparavant), ils ont réussi à conférer d'emblée et régulièrement l'état réfractaire. Celui-ci, *quelle qu'en soit la durée*, aboutit derechef à l'hypersensibilité.

L'hypersensibilité des « cobayes Th. Sm. » s'explique sans difficulté par le développement d'une lysine, ainsi qu'il résulte de nos recherches ; l'absence de coaguline concomitante (dans le cas des sérums) en fait même le type de l'hypersensibilité pure. L' « antianaphylaxie » résulte de la *baisse* du pouvoir lytique; elle n'est jamais absolue, semble-t-il, car on peut tuer les animaux « réfractaires » par la voie intraveineuse. (Chez les sujets auxquels nous faisons allusion, il existait encore de la lysine dans les humeurs, après l'administration intracérébrale bien supportée). — L'excès de sérum, non décomposé lors de l'effet Besredka-Steinhardt, suffit à engendrer (avec le temps) assez de lysine supplémentaire pour que l'organisme récupère son titre albuminolytique initial.

D'après Besredka — et telle est absolument notre opinion — la cellule nerveuse ne joue aucun rôle dans la production de l'hypersensibilité. Nous la considérons comme subissant, passivement, les effets du poison vrai, libéré par albuminolyse. Aussi, en supprimant, grâce à la narcose, son affinité pour ce poison, arrive-t-on à empêcher la mort des animaux (Besredka).

Ph. d'Arthus. — Les lapins, soumis d'une façon réitérée (quotidiennement ou à plusieurs jours d'intervalle), aux injections sous-cutanées de sérum équin, manifestent, tout d'abord, des réactions locales de plus en plus marquées; puis, tantôt l'hypersensibilité demeure stationnaire (avec des oscillations, d'une

séance à l'autre), tantôt elle progresse et aboutit à la nécrose aseptique. La mort par cachexie, avec ou sans complications infectieuses, s'observe très fréquemment (voir le travail de l'un de nous, sur le phénomène d'Arthus, où l'histoire de ce syndrôme est étudiée avec tous les détails nécessaires). L'administration intrapéritonéale répétée du sérum équin reste, par contre, bien tolérée de la part du plus grand nombre des sujets; il faut savoir, cependant, que certains animaux mourront cachectiques, avec ou sans paraplégie antécédente, avec ou sans infection surajoutée. Mais les lapins, traités par les injections intrapéritonéales, se montrent toujours hypervulnérables lors de l'épreuve sous-cutanée ou intraoculaire (ce dernier mode, très sensible et absolument démonstratif dans les cas d'hypers. légère, a été indiqué par Arthus, il y a déjà longtemps, à l'un de nous), inconstamment vis-à-vis de l'épreuve intraveineuse ou intracérébrale. L'injection réitérée de sérum, dans les veines, fournit des résultats très variables; tantôt elle est bien supportée; tantôt elle tue les sujets, soit très vite, soit à la longue. Elle hypersensibilise régulièrement pour l'épreuve sous-cutanée. — Le *pigeon* se comporte comme le lapin, en ce qui concerne le phénomène d'Arthus (recherches inédites de Jouan).

Le sérum des « lapins-Arthus » renferme de la coaguline, comme chacun le sait et de la lysine, comme nous l'avons établi. Les résultats variables, observés lors des injections sous-cutanées, ne font que traduire à nos yeux la proportion variable des deux anticorps. La tolérance habituelle, vis-à-vis des injections intrapéritonéales, s'explique par une coagulation habituellement rapide et intense de l'antigène introduit; dans le tissu cellulaire (ou la chambre antérieure) *des mêmes animaux*, comme dans celui des chevaux immunisés contre les « toxines solubles », la coagulation ne sera ni assez rapide ni assez intense et la lyse aura, conséquemment, tout le temps de s'accomplir. La diversité des phénomènes, consécutifs à l'injection intraveineuse, tient à une simple affaire d'élimination ou de non élimination du poison vrai. Enfin, le peu de sensibilité des lapins, vis-à-vis de l'épreuve intracérébrale, s'explique vraisemblablement de la même façon que leur peu de sensibilité vis-à-vis des injections intrapéritonéales; si les « cobayes Th. Sm. » se

comportent autrement, c'est qu'ils n'ont pas formé de coaguline.

Rappelons, en terminant, que l'hypersensibilité des « lapins Arthus » est transmissible par le sérum, comme l'un de nous l'a démontré.

Maladie sérique. — Les individus qui ont reçu divers sérums thérapeutiques, offrent, plus ou moins fréquemment, des accidents aujourd'hui bien connus et deviennent en outre hypersensibles vis-à-vis d'une nouvelle injection (nous renvoyons, pour tout ce qui concerne la « maladie sérique », à la monographie classique de v. Pirquet et Schick). Les accidents éclatent après 8-12 jours; c'est la « maladie à incubation normale ». Dans les premiers temps qui suivent, la réinjection détermine la *réaction immédiate*, ou « maladie sans incubation », à laquelle succède ou non la *réaction précoce*, ou « maladie à incubation raccourcie ». Plus tard, cette dernière seule s'observe. Le sérum des individus, traités par les anticorps thérapeutiques, contient de la coaguline et, sûrement aussi, de la lysine. Lorsque cette dernière prédomine avant la disparition de l'antigène, les accidents sériques éclatent. Tant que la lysine demeure largement « disponible », la réaction immédiate est fatale; ultérieurement, la réaction précoce seule pourra se produire.

II

Nous ne dirons que quelques mots, au sujet des *albuminoïdes* déjà *toxiques* pour les sujets « neufs ».

On vient de voir que les *sérums*, les plus inoffensifs en apparence, récèlent de violents poisons. La quantité de ces derniers varie d'un échantillon à l'autre et peut s'élever considérablement pour les sérums thérapeutiques, comme l'a démontré Besredka, par des titrages comparés sur les « cobayes Th. Sm. ». A mesure qu'un sérum s'enrichit en anticorps, il s'enrichit donc en « endoxine » *propre* : c'était à prévoir; aussi bien, Latapie n'a-t-il pas observé que le sérum de chèvre devient toxique pour le cobaye après injection du bacille de Pfeiffer, à une période où l'endotoxine du microbe introduit ne peut plus être incriminée.

Mais il est, on le sait, des sérums normaux déjà nuisibles par eux-mêmes et contre lesquels on peut hypersensibiliser et immuniser. Nous n'aborderons point leur histoire, parce que

ces sérums contiennent certainement des « toxines solubles » à côté de leurs « endotoxines » et qu'on n'a pas encore établi la part respective des deux sortes de poisons (bruts) dans l'action toxique globale. Rien ne dit même que les sérums inoffensifs ne renferment pas une « *toxine soluble* » *inoffensive* comme l'est la toxine diphtérique pour le rat. Bornons-nous à faire connaître que l'activité des sérums normalement dangereux s'accroît au cours de l'immunisation; l'un de nous a remarqué, jadis, que le sérum des bovidés devenait extraordinairement toxique pour le cobaye, lorsque ces animaux avaient reçu, à maintes reprises, des bacilles pesteux ou du virus de la peste bovine.

A côté des sérums, il nous faudrait parler des *extraits cellulaires* et des *filtrats microbiens*; mais ce serait faire double emploi avec qui va suivre.

CYTOCOAGULINES ET CYTOLYSINES

Nous résumerons les caractères bien connus des cytocoagulines (*agglutinines*) et des cytolysines en conservant, à dessein, le même plan et en employant presque les mêmes termes que pour les autres coagulines et lysines déjà décrites.

I

Les agglutinines jouissent du pouvoir de condenser la substance des cellules vivantes ou mortes (et des spores bactériennes) et de paralyser les éléments mobiles. *In vitro*, elles se fixent sur les antigènes correspondants (en suivant les lois communes aux divers anticorps), les coagulent et, partant, les précipitent dans des conditions de mélange et de concentration saline convenables. Lorsqu'on fait agir, sur les cellules, soit la chaleur, soit certains réactifs chimiques, on voit que l'agglutinabilité diminue progressivement et finit par disparaître (elle reparaît parfois, à une température supérieure, pour les bactéries chauffées); le pouvoir fixateur se maintient plus longtemps. L'agglutinabilité des spores fléchit moins facilement que celle des germes correspondants, pris à l'état végétatif.

La coagulation des cellules par les agglutinines se trouve liée au pouvoir fixateur et à la coagulabilité de celles-ci d'une part, à la « force » du sérum d'autre part. Lorsqu'un sérum est

« fort », il devient capable d'agglutiner non seulement les antigènes voisins, mais encore, etc... *comme pour les précipitines.* Rappelons que plus une bactérie est virulente, moins elle se montre sensible à l'action des agglutinines — et qu'on a pu, artificiellement, créer des races inagglutinables, comme aussi rendre *in vitro* leur agglutinabilité aux microbes qui l'avaient perdue *in vivo*.

Les agglutinines déterminent, *in vitro*, une modification physique (puis chimique) des cellules, laquelle atteint surtout (peut-être même exclusivement) les parties limitantes de celles-ci (« enveloppes » et cils), ainsi que l'ont montré Ch. Nicolle et Defalle — d'où changement dans les relations d'équilibre des antigènes avec leur milieu et agglomération.

In vivo, il y a fixation, coagulation (*sans agglutination*), puis destruction sous l'influence des lysines. La fixation, au sein de l'organisme, est démontrée par la baisse immédiate du pouvoir agglomérant, chez les sujets qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène. La coagulation devient de plus en plus énergique et finit par gagner la totalité de la cellule, qui peut succomber rapidement s'il s'agit d'un élément vivant. Ce qui nous porte à admettre cette *mort par coagulation*, c'est, d'abord, le fait (rappelé dès le début du travail précédent) que les anticorps agissent *in vivo* d'une façon continue et, partant, avec plus d'intensité qu'*in vitro;* ensuite, la rencontre banale — chez les sujets infectés — de bactéries d'aspect et de colorabilité normales, dont on n'arrive point à obtenir des cultures dans les milieux les plus favorables.

II

In vitro, les cytolysines se fixent sur les antigènes correspondants (même altérés) et, grâce au pouvoir activant des compléments qu'on leur associe, les « dissolvent » et en libèrent des poisons considérés par nous comme les « endotoxines vraies » (la quantité libérée demeure ordinairement faible *in vitro*). La « dissolution » serait impossible à mettre en évidence, sans le procédé de Bordet-Gengou, toutes les fois qu'il s'agit d'éléments difficilement attaquables soit d'emblée (nombreuses bactéries et, *a fortiori*, leurs spores), soit après

tels ou tels traitements préalables. Et la chose se conçoit sans peine, car, pour une *consommation* relativement *énorme* d'anticorps, la lyse demeure alors imperceptible. Parfois, au contraire, cette lyse se traduit par des phénomènes caractéristiques : mort des cellules, transformations morphologiques plus ou moins profondes — mais, rarement, par une « dissolution » totale.

In vivo, l'attaque est bien autrement marquée. La lysine se fixe (comme le démontre la baisse immédiate du pouvoir dissolvant, chez les sujets qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène), puis décoagule, avec une vitesse variable, les cellules correspondantes ; le degré d'intoxication observé donne la mesure de cette vitesse. Nous y reviendrons, en étudiant l'hypersensibilité vis-à-vis des cellules. — Rappelons ici que, selon nous, l'action lytique est toujours précédée d'une coagulation.

Pour mettre en évidence les poisons libérés, *in vitro*, par la destruction des cellules, on peut s'adresser à des antigènes déjà toxiques chez les sujets sains, mais les expériences demeurent alors peu démonstratives ; il vaut donc bien mieux opérer avec des antigènes inoffensifs au regard de l'organisme neuf, ce qui suppose l'emploi de sérums très actifs et de cellules très « solubles ». D'où la rareté des résultats positifs. En voici cependant un, indéniable, que nous devons à Batelli et qui peut se schématiser ainsi : le sérum de lapin normal ne « dissout » pas les hématies de chien ou de bœuf ; le sérum de lapin, traité par ces mêmes globules, les dissout — le mélange de sérum de lapin normal et d'hématies de chien ou de bœuf peut être injecté impunément dans les veines des animaux ; le mélange de sérum de lapin traité et d'hématies détermine une mort rapide.

Inutile d'insister à nouveau sur les « poisons de Vaughan » que l'on peut extraire des cellules. Bornons-nous à résumer les recherches que nous avons entreprises, en suivant le procédé américain, avec le *b. coli* et le b. tuberculeux.

Étude du b. coli. — Traité par la méthode de Vaughan, il a fourni, lors d'une *première opération*, 20 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, repris par l'eau, tuait le cobaye, dans le péritoine, en 25′ environ, à la dose de 30 milligrammes ; dans les veines, en quelques instants, à celle

de 3 milligrammes; et, dans le cerveau, en quelques heures, sous le même poids. Un lapin est mort, dans la nuit, après avoir reçu 40 milligrammes par la voie intraveineuse. Le produit d'une *seconde opération* s'est montré moins toxique (il a fallu 100 milligrammes pour tuer le cobaye dans le péritoine).

Le *résidu* (de la 2e opération) était inoffensif, pour le cobaye, à la dose il a de 200 milligrammes (voie intraabdominale). 20 milligrammes ont été injectés sous la peau des lapins, sans déterminer d'hypersensibilité; le sérum de ces animaux n'a d'ailleurs jamais dévié le complément en présence du *b. coli* ni de ses extraits. 2 milligrammes ont été injectés dans le péritoine d'un cobaye; 15 jours après, cet animal a été « éprouvé », par la voie intracérébrale, avec 1 centigramme de bacilles vivants (*b. coli* très peu virulent, provenant d'une gélose de 24 heures — on s'est adressé aux microbes frais, pour avoir un antigène facilement décoagulable) : mort dans la nuit, *alors que le témoin résistait*. 1 milligramme de résidu a été injecté, quotidiennement, dans le péritoine d'un cobaye; après 15 jours, épreuve intra-abdominale, avec 1 c. c. de culture virulente (24 heures — bouillon-ascite) : survie, alors que le *témoin succombe* dans la nuit. Le sérum des deux cobaye, dont il vient d'être question déviait le complément en présence du *b. coli* et de ses extraits.

Étude du bacille tuberculeux. — Traité par la méthode de Vaughans il a fourni, en deux attaques, 18 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu (aucune différence de toxicité entre la première et la seconde fraction). Ce produit, repris par l'eau, ne tuait le cobaye, dans le péritoine, qu'à la dose de 150 milligrammes et, dans les veines, qu'à celle de 15 milligrammes. *Il ne s'est pas montré plus toxique pour les sujets tuberculeux.* Mais il a pu hypersensibiliser les cobayes vis-à-vis de la tuberculine. En effet, deux animaux, qui avaient reçu, respectivement, 6 milligrammes dans les veines et 80 milligrammes dans le péritoine, « éprouvés » 13 jours après, dans le cerveau, avec 12mgr,5 d'une tuberculine assez faible (dose inoffensive pour 5 *témoins*), ont succombé en 4-5 heures. Le sérum de ces cobayes déviait le complément en présence de la tuberculine.

Le *résidu* était très peu toxique (il en fallait 1 gramme — dose, il est vrai, totalement indifférente aux sujets neufs — pour tuer les cobayes tuberculeux dans le péritoine). Cependant, les lapins auxquels on en administrait, quotidiennement, 20 milligrammes sous la peau, offraient, parfois dès la 3e injection, des réactions anormales (*phénomène d'Arthus*) et le sérum déviait le complément en présence de la tuberculine. Le résidu jouisssait aussi du pouvoir d'hypersensibiliser les animaux vis-à-vis de la tuberculine. Un sapin, qui avait reçu, 15 jours de suite, 20 milligrammes sous la peau, a succombé, après 4 heures, à l'injection de 50 milligrammes d'une tuberculine assez faible dans le cerveau (*deux temoins* n'ont manifesté aucun trouble). Un cobaye, qui avait reçu 20 milligrammes dans le péritoine, est mort en 6 heures, le 15e jour, après avoir été éprouvé par 12mgr,5 de la même tuberculine (voie intra-cérébrale); tandis qu'un second sujet, qui avait reçu 15 jours de suite 20 milligrammes dans le péritoine, a parfaitement résisté. De même que pour les sérums normaux, l'ovalbumine et le *b. coli*, une seul

dose détermine donc l'hypersensibilité, des doses répétées l'immunité (chez le cobaye). Le sérum des deux animaux dont il vient d'être question déviait le complément en présence de la tuberculine.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ VIS-A-VIS DES CELLULES

Nous étudierons, successivement, ce qui a trait aux *cellules non microbiennes*, vivantes ou non (la différence entre les premières et les secondes demeure pratiquement négligeable, puisqu'il s'agit d'éléments incapables de se développer *in vivo*) — aux *microbes morts* — et aux *microbes vivants*.

I

L'histoire de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des *cellules non microbiennes* reproduit, *servilement*, celle de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes. Et c'était à prévoir d'avance, car, au point de vue antigène, une cellule ne représente qu'un « albuminoïde figuré ». Il nous faut donc distinguer entre les *cellules toxiques* et les *cellules non toxiques* (pour l'organisme normal). Les premières ont été assez peu étudiées; les effets obtenus sont absolument les mêmes qu'avec les microbes, aussi n'insisterons-nous point. Les secondes, au contraire, notamment les hématies, ont fait l'objet de recherches fort nombreuses, dont les résultats sont pleins d'intérêt, ainsi qu'on va le voir.

Il est plus que probable que le *ph. de Th. Smith* pourrait être réalisé (chez le cobaye, naturellement) avec diverses cellules et surtout avec des cellules « très solubles », tels les globules rouges; nous n'avons pas eu le temps d'effectuer des expériences sur ce point. Par contre, chaque fois que l'on traite les animaux de laboratoire dans le but d'obtenir des cytotoxines, on se comporte comme si l'on voulait prendre le contre-pied du *ph. d'Arthus*; on a grand soin, en effet, de n'employer que les injections intrapéritonéales, qui réduisent au minimum les pertes engendrées par l'hypersensibilité

La production de cette hypersensibilité vis-à-vis des cellules inoffensives et de l'immunité associée que l'on cherche donc à rendre habituellement prépondérante, se trouve liée (non moins que dans tous les cas déjà envisagés) à celle des anticorps déter-

minants et, partant, à l'organisme, à l'antigène et aux conditions d'introduction de celui-ci. — ORGANISME. Toutes les *espèces* ne conviennent pas également à l'obtention de telle ou telle cytotoxine, c'est un fait connu; en présence de résultats négatifs ou médiocres, il est indiqué de choisir, comme fournisseur de sérum, une espèce très éloignée de celle à laquelle sont empruntés les éléments antigènes. (Delezenne. — On connaît, inversement, le peu de tendance de l'organisme à former des *iso* et des *autotoxines*.) D'autre part, étant donnée une cellule, toutes les espèces qui la reçoivent ne produiront pas la même proportion de coaguline et de lysine. — ANTIGÈNE. Inutile d'insister sur sa *nature*; certains éléments se montrent plus aptes que d'autres à engendrer des anticorps; certains engendrent plus facilement des coagulines que des lysines et *vice versa*. Les *modifications*, apportées aux cellules, exagèrent ces différences. La chaleur et les réactifs coagulants font fléchir le pouvoir antigène et arrivent finalement à le supprimer; mais, comme on devait le prévoir, d'après ce qui a déjà été dit antérieurement, le pouvoir lysogène disparaît bien avant le pouvoir coagulogène. Réciproquement, l'injection des parties les moins condensées des cellules ou des produits de décondensation de celles-ci favorise la prédominance, voire l'apparition exclusive des lysines : liquide de laquage ou extrait acétonique des globules rouges, urine normale... pour ce qui concerne les hémotoxines. — CONDITIONS D'INTRODUCTION DE L'ANTIGÈNE. Les fortes *doses* donnent surtout naissance aux agglutinines, les faibles doses aux lysines; confirmation nouvelle de la loi indiquée dans le travail précédent. La meilleure *voie*, comme toujours, est la voie intrapéritonéale, quand on veut éviter l'hypersensibilité. Mentionnons, en passant, l'ingestion qui équivaut simplement, ici comme ailleurs, à l'administration d'une quantité restreinte d'antigène. — La spécificité des cytotoxines demeure très relative, à moins qu'on ne pratique le traitement des animaux avec les « nucléoprotéides », extraites des cellules par les moyens connus (Pearce, Beebe, Bierry). — L'administration des mélanges « sérum + ce lules « n'engendre que peu d'anticorps ou même échoue complètement; cela tient à ce que la destruction de l'antigène a été rendue trop rapide.

Chez les animaux traités, les lysines et les coagulines

naissent généralement en même temps. Leurs quantités respectives régissent les phénomènes d'hypersensibilité et d'immunité ; aussi, la formation exclusive de lysine fait-elle courir les plus grands dangers à l'organisme qui l'a réalisée. Toutefois, il ne faut pas oublier que l'apparition des accidents toxiques est soumise, non seulement aux proportions respectives de coaguline et de lysine, mais encore à la quantité d'antigène administrée lors des réinjections et à la voie d'introduction choisie. Chaque fois, répétons-le, que la coagulation de l'antigène peut être suffisamment rapide et intense, la lyse demeurera lente et l'intoxication fera défaut : c'est ce qui arrive, habituellement, quand on emploie la voie intrapéritonéale; chaque fois que la coagulation de l'antigène ne peut se produire avec assez de vitesse et d'intensité, la lyse s'opérera rapidement et l'empoisonnement deviendra inévitable : c'est ce que l'on observe lors des injections sous-cutanées. *Tout dépend exclusivement de la vitesse de décoagulation de l'antigène et, partant, de la vitesse de libération du poison vrai.* La voie intraveineuse se montre ordinairement plus dangereuse, ici, que dans le cas des sérums normaux; on doit voir l'unique raison de cette différence dans la grande « solubilité » habituelle des « endotoxines » cellulaires. Les expériences de Batelli le démontrent clairement, pour ce qui concerne les hématies.

Le sérum des animaux traités transmettra, selon ses caractères, l'immunité ou l'hypersensibilité aux sujets neufs. Mais il convient de distinguer deux cas. Le premier — superposable à tous ceux que nous connaissons déjà — concerne les expériences où un animal neuf, appartenant ou non à l'espèce qui a fourni le sérum mais point à celle qui a fourni les cellules, reçoit, simultanément ou successivement, le sérum et les cellules. (Nous retrouverons, cela va de soi, les mêmes conditions à propos des microbes.) Le *second cas, spécial* aux cytotoxines, concerne les expériences où un animal neuf, appartenant à l'espèce qui a fourni les cellules, reçoit une injection de sérum préparé avec ces mêmes cellules. Lorsque le sérum est doué de propriétés fortement lytiques, il en résulte double dommage pour le sujet : destruction d'éléments parfois indispensables à la vie (neurotoxines — Delezenne) et empoisonnement par décoagulation des éléments atteints

Revenons au *premier cas* et « illustrons-le » d'un exemple classique. Lorsqu'on injecte, aux animaux neufs, soit simultanément soit successivement, un sérum hémotoxique et des globules rouges homologues (choisis, bien entendu, parmi ceux que n'attaque point l'organisme de ces animaux), les effets varieront selon que ce sérum contiendra, ou non, un excès de lysine et selon l'importance de cet excès. On peut les schématiser par la gamme montante qui suit : destruction « silencieuse » des hématies; phénomènes généraux peu marqués et transitoires ; phénomènes généraux marqués avec hémoglobinurie ; phénomènes généraux très marqués allant jusqu'à la mort rapide, voire foudroyante.

Quand il s'agit d'un sujet neuf, dont l'économie renferme les globules sensibles et auxquels on administre une hémolysine active, l'intoxication se double, bien entendu, d'une anémie plus ou moins intense.

II

Les *microbes morts* se montrent le plus souvent toxiques; mais il existe, à cet égard, de grandes différences dont on mesure immédiatement l'étendue quand on entreprend des expériences d'immunisation. Il est on ne peut plus facile — trop facile malheureusement — d'hypersensibiliser les animaux avec les germes tués; il est, par contre, fort difficile de les rendre réfractaires et la résistance, péniblement obtenue, demeure toujours très limitée.

Afin de ne point compliquer outre mesure le problème qui nous occupe, nous ne tiendrons ici aucun compte des « toxines solubles » généralement associées, pensons-nous, aux « endotoxines » chez les divers microbes ; et l'erreur théorique sera pratiquement pardonnable, parce que la plupart des causes qui amènent la mort des microbes détruisent, complètement ou à peu près, les « toxines solubles », alors qu'elles respectent, au moins en grande partie, les « endotoxines » coexistantes.

L'hypersensibilité et l'immunité se trouvent liées, comme toujours, aux trois facteurs : *organisme*, *antigène*, *conditions d'introduction de l'antigène*, qui gouvernent la production des anticorps. Ainsi que pour ce qui concerne les cellules non micro-

biennes, un germe étant donné, toutes les espèces animales ne forment point les anticorps correspondants avec une égale facilité; et celles qui en forment n'engendrent pas les mêmes proportions respectives de coaguline et de lysine. — Les divers microbes ne sont pas également antigènes: ils ne sont point coagulogènes et lysogènes à un degré semblable. Leur toxicité, plus ou moins forte, vient encore compliquer les résultats expérimentaux. Les modifications, que l'on fait subir aux germes, entraînent exactement les mêmes conséquences que dans le cas des cellules non microbiennes (voir plus haut). Nous retrouvons aussi, avec les germes modifiés, des changements qualitatifs du pouvoir antigène, superposables à ceux que les travaux d'Obermeyer et Pick nous ont fait connaître pour les albuminoïdes. Nous savons, d'autre part, que les microbes traités « à la Vaughan » fournissent un résidu susceptible de provoquer l'hypersensibilité. Ajoutons que les germes vivants constituent, à n'en point douter, les meilleurs (ou les moins mauvais) agents d'immunisation contre les germes morts. Et rappelons, pour terminer, que des microbes, vivants ou morts, peuvent immuniser et (plus fréquemment encore) hypersensibiliser les animaux vis-à-vis d'autres germes, ainsi que l'un de nous l'a établi lors de ses études sur la morve, avec de très nombreux exemples à l'appui. — La question des doses se présente comme dans le cas des cellules non microbiennes. — La voie d'introduction la meilleure, quand on veut éviter l'hypersensibilité, reste la voie intrapéritonéale; toutefois, on lui préfère communément la voie intraveineuse, plus commode, mais exposant à plus de dangers.

Les sujets, traités par les microbes morts, produisent habituellement à la fois des coagulines et des lysines, ainsi qu'il est facile de le constater en étudiant leurs sérums au double point de vue de la réaction agglutinante et de la réaction de Bordet-Gengou. Mais, d'ordinaire, la proportion de coaguline formée demeure insuffisante à assurer l'immunité; dans certaines circonstances même, il n'apparaît que de la lysine (c'est le cas des animaux auxquels on injecte les « résidus » de Vaughan).

Les effets de l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes morts ont été décrits avec détails par l'un de nous, lors de ses

recherches sur la morve du cobaye et mis très nettement alors sur le compte d'un anticorps (dans le travail dont nous parlons et dans un travail du même auteur, consacré au phénomène d'Arthus, on a évité *volontairement* de faire allusion à la nature lytique des anticorps d'hypersensibilité, afin de ne pas empiéter sur l'étude d'ensemble actuelle). « L'hypers., écrivait-on à propos des bacilles morveux morts, peut se traduire par deux *phénomènes primaires, d'ordre* exclusivement *toxique* : la réaction locale et la réaction générale (anormales, bien entendu) — et par un *phénomène secondaire d'ordre infectieux :* le réveil ou le développement d'une maladie étrangère (le développement se manifestant, selon les cas, localement ou à distance). » Nous demandons la permission de citer la suite. Cette citation fera bien voir comment se présente l'hypersensibilité vis-à-vis d'un *microbe toxique mort* et démontrera, en même temps, que les idées exposées aujourd'hui sur le sujet qui nous occupe étaient déjà parfaitement nettes dans l'esprit de l'un de nous, lorsqu'il rédigeait le passage suivant.

« Réaction locale. — Voyons d'abord ce qui survient, à la suite des *injections sous-cutanées* (microbes tués avec l'alcool-éther, par exemple), chez les sujets hypers. soit par la voie hypodermique, soit par une autre. Nous rencontrons ici toute une *gamme de lésions* des plus instructives, lesquelles sont, en partant de la réaction normale : la réaction prolongée — la réaction prolongée, avec ramollissement partiel (de l'empâtement local) suivi de résorption — la réaction prolongée, avec ramollissement partiel suivi de suppuration — la réaction aiguë, avec suppuration pure et simple — la réaction aiguë, avec escharification cutanéo-sous-cutanée et suppuration plus ou moins marquée — la réaction suraiguë, avec escharification cutanéo-sous-cutanée et suppuration uniquement éliminatrice. C'est-à-dire que nous nous trouvons en présence d'une série de phénomènes qui traduisent une *vitesse de réaction* croissante de l'organisme vis-à-vis des germes morts ; le résultat obtenu est le même que si l'on avait multiplié les doses de ceux-ci, de telle sorte que l'on pourrait mesurer pratiquement l'hypers. par le nombre des doses virtuelles surajoutées. Passons, maintenant, aux *injections intrapéritonéales* ; ici, c'est tantôt le tableau de la péritonite suraiguë, débutant parfois très peu d'heures après l'introduction des microbes morts ; tantôt celui de l'intoxication plus ou moins lente et souvent mortelle, sans qu'on puisse, comme lors des injections sous-cutanées, analyser les termes intermédiaires. Les *injections intramusculaires* sont encore moins instructives ; rappelons, en passant, le mauvais pronostic qui s'attache à une résorption trop rapide de la tuméfaction fessière.

Réaction générale. — Elle revêt l'apparence d'une *intoxication générale*

injustifiée, de même que la réaction locale représente une *intoxication locale* hors de proportion avec la dose introduite. Son intensité dépend, avant tout, de la voie employée, puis du nombre et de la toxicité des germes morts.

Développement ou réveil d'une infection étrangère. — Nous entrons ici dans le domaine des *phénomènes secondaires de l'hypers.*, phénomènes dont nous chercherons bientôt l'explication ».

Il suffit de remplacer, dans « vitesse de réaction », le mot « réaction » par le mot « décoagulation » — qui se trouve, d'ailleurs, deux pages plus loin (« *décoagulation des corps microbiens introduits sous la peau* ») et à de *nombreux* endroits du travail dont nous parlons — pour comprendre que la notion de lyse était considérée comme *évidente* lorsque l'on écrivait les lignes qui précèdent. Celles-ci ont trait aux cobayes hypersensibilisés par les germes morts ; les accidents demeurent les mêmes, chez les sujets préalablement traités par les germes vivants ; toutefois, si les microbes n'ont pas encore disparu lors de l'épreuve, on peut observer, en dehors de la *réaction locale* et de la *réaction générale*, une *réaction à distance*, dont nous renvoyons l'étude au chapitre suivant, afin d'éviter les redites. (Le mécanisme, qui engendre le développement ou le réveil des infections étrangères, sera aisément déduit de celui qui engendre la réaction à distance). — Le bacille tuberculeux se comporte tout à fait comme le bacille morveux, pour ce qui concerne les phénomènes d'hypersensibilité ; il suffit de le rappeler ici.

On sait qu'il est difficile d'immuniser les animaux contre une quantité tant soit peu marquée de microbes morts ; et que les sujets, rendus tolérants vis-à-vis des germes tués introduits par la voie péritonéale, se montrent encore sensibles aux doses équivalentes injectées sous la peau et sont exposés à succomber très vite, lorsque celles-ci sont portées directement dans la circulation.

A côté de l'*immunité active*, il convient de mentionner l'*immunité passive*, dont nous devons la découverte aux travaux de Besredka. Besredka a établi que le sérum des chevaux, qui ont reçu pendant longtemps des bacilles typhiques ou pesteux (morts, puis vivants) dans les veines, jouit du pouvoir de neutraliser les effets des « endotoxines » correspondantes. On le

démontre en injectant ces sérums soit par la voie abdominale (mêlés aux bacilles morts), soit par la voie sous-cutanée (de une à 24 heures avant les bacilles morts — toujours administrés dans le péritoine). Nous attribuons l'action « anti-endotoxique » observée aux coagulines très abondantes (et certainement dominantes) dans les sérums employés par Besredka.

III

Nous arrivons, maintenant, à l'histoire des *microbes vivants*. Parmi ceux-ci, il convient de distinguer les *germes saprophytes*, qui se comportent comme les cellules non microbiennes et dont nous ne nous occupons point — et les *germes pathogènes*, que l'on reconnaît à leur virulence plus ou moins marquée et qui seront seuls envisagés ici.

La *virulence* d'un microbe se traduit par l'intensité de son développement *in vivo*; elle n'offre aucun rapport avec l' « endotoxicité » et rien ne prouve, jusqu'à présent, que la production des « toxines solubles » lui soit proportionnelle — loin de là. Nous avons dit, plus haut, qu'à notre avis les « toxines solubles » se trouvaient généralement associées aux « endotoxines, chez les germes vivants. Cette question, qui sera approfondie ultérieurement dans un autre travail, vient compliquer l'étude de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes. Pour échapper aux inconvénients d'une telle complexité, nous laisserons de côté les germes très « toxigènes », dont le facteur essentiel d'influence nocive est représenté par leurs « toxines solubles » — déjà étudiées précédemment — et nous aurons surtout en vue les germes peu ou point « toxiques », dont nous confondrons volontairement l'histoire avec celle de leurs « endotoxines ». Il deviendra ensuite possible, pour un microbe donné, de déterminer la part respective que prennent les deux sortes de poisons dans les phénomènes d'immunité et d'hypersensibilité.

Admettons donc que nous n'avons devant nous que de simples « endotoxines vivantes ». Le problème est déjà bien plus difficile qu'avec les microbes morts, car la réceptivité des animaux en jeu — affaire, avant tout, de proportion des anticorps normaux « au départ » — se modifiera, pendant le « traite-

ment », dans un sens éminemment variable selon les circonstances. On sait que l'organisme réagit aux antigènes par la formation d'anticorps surabondants et spécifiques. A cette réaction élective de l'économie, rien ne pouvait s'opposer, cela va de soi, pour les antigènes étudiés jusqu'ici (toxines, albuminoïdes, cellules mortes ou tout au moins incapables de développement *in vivo*) et l'on se trouvait en présence d'un acte unilatéral. Avec les microbes vivants, au contraire, il y a *réciprocité complète*, puisque la virulence peut s'exalter non seulement dans le sens quantitatif : augmentation du stock d'endotoxine — mais encore dans le sens qualitatif : adaptation, parfois très étroite (voire exclusive), à tel ou tel organisme. (L'étude de cette adaptation sera entreprise plus tard et ailleurs ; elle nécessite des développements assez longs, qui nous entraîneraient tout à fait en dehors de l'histoire, déjà si complexe, des anticorps.)

Nous ne saurions aborder ici, par le menu, l'étude des diverses méthodes de « traitement » susceptibles de déterminer l'immunité ou l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes vivants. Mentionnons seulement, sans y insister, la supériorité des germes virulents sur les germes avirulents et des germes vivants sur les germes morts, comme agents d'immunisation. L'emploi des microbes vivants et, *a fortiori*, virulents, demeure malheureusement limité aux cas où l'on réussit à les faire accepter par l'organisme, soit en réduisant leur nombre, soit en choisissant un mode déterminé d'introduction. Partout ailleurs, il faut s'adresser aux germes atténués, affaiblis ou privés de vie — et même aux dérivés microbiens les plus variés. (Lorsqu'il s'agit d'hyperimmuniser les animaux, on inocule ensuite, dès qu'on le peut, des microbes vivants et virulents). Citons encore une méthode de vaccination qui donne, dans certains cas, des résultats satisfaisants ; nous voulons parler du procédé des germes dits « sensibilisés » (Besredka). Ceux-ci n'agissent pas seulement (comme on l'a admis jusqu'ici) par la lysine, mais encore et surtout par la coaguline qu'ils ont fixée ; autrement, on ne saurait concevoir l'absence de tout phénomène toxique, observée après leur injection. Avec les germes « sensibilisés », l'apparition et la durée de l'état réfractaire dépendent uniquement de la vitesse de destruction de l'antigène ; à une destruction trop rapide, correspond

une immunité nulle ou éphémère. C'est affaire de microbe, de sérum, d'espèce d'animale et de conditions d'inoculation.

Au lieu d'administrer des germes chargés d'enzymes digestifs artificiels (et homologues), on peut « mâcher la besogne » aux enzymes normaux en injectant des germes « dissous » (par exemple, des pneumocoques « solubilisés » à l'aide de la bile ou des filtrats de *subtilis* — Neufeld, Adil-bey et l'un de nous) ou des « résidus » (méthode américaine). L'immunité s'établit alors rapidement, quelquefois même très rapidement (avec le résidu du *b. coli*, Vaughan rend le cobaye réfractaire en 30 minutes); mais sa durée est, en général, d'autant plus brève que son apparition a été plus précoce.

(Afin d'éviter des redites, nous renverrons au chapitre des anticorps naturels, pour ce qui concerne les méthodes d'immunisation ou d'hypersensibilisation qui reposent sur l'emploi des microbes étrangers, des sérums normaux, des agents chimiques et des substances indifférentes.)

Suivant les circonstances, le « traitement » des animaux avec les germes vivants, les germes morts, etc... engendre soit l'immunité, soit l'hypersensibilité, soit la succession ou la cœxistence de ces deux états opposés. Même variété, quant aux suites de l'infection « naturelle ». *In vitro*, on retrouve le plus souvent coagulines et lysines associées, dans le sérum des sujets « traités » ou infectés. — Passons maintenant en revue, le plus brièvement possible, l'histoire générale des agents des maladies aiguës et chroniques.

Certains microbes d'affections aiguës ne vaccinent point ou ne déterminent qu'une immunité insignifiante et éphémère. Cela peut tenir à la nature médiocrement antigène des germes, à leur développement tout en surface, ou aux deux causes réunies. Les microbes dont nous parlons hypersensibilisent plus ou moins selon les cas.

D'autres germes produisent une immunité marquée et habituellement durable, sans que l'on perçoive jamais de phénomènes d'hypersensibilité. Cela peut résulter de leur caractère très antigène, de leur généralisation, ou des deux facteurs à la fois. Comme exemple d'un état réfractaire « idéal », succédant à une excessive sensibilité, rappelons ce que l'un de nous écrivait

(avec Adil-bey) au sujet de la peste bovine : « l'immunité des animaux guéris se montre pour ainsi dire *illimitée*. A peine sortis de la période fébrile, ils peuvent recevoir, coup sur coup, 4, 8, 10 litres de sang virulent; *jamais* on n'arrive à les tuer, quelle que soit leur race, quel que soit leur âge. » Et comme exemple de deux affections aussi voisines que possible aboutissant, l'une à l'immunité type, l'autre à l'hypersensibilité type, citons la variole et la vaccine. Comme l'ont fait voir v. Pirquet et Schick, dans la peau des revaccinés, les germes jennériens périssent avant de s'être multipliés suffisamment pour engendrer la pustule classique. Leur destruction s'opère d'autant plus vite que l'intervalle entre la revaccination et la vaccination (ou entre deux vaccinations consécutives) a été plus court; on observe, selon les cas, une réaction immédiate ou une réaction précoce, superposables à celles que nous avons rencontrées dans la maladie sérique des mêmes auteurs. C'est aussi le même mécanisme : pure question de lysines (le sérum des revaccinés ne précipite point la lymphe) et de poison libéré d'une façon plus ou moins précoce (et, partant, en plus ou moins grande quantité). On conçoit sans peine comment la « cutiréaction vaccinale », née de l'étude de la maladie sérique, devait fatalement conduire à la « cutiréaction tuberculeuse », même en dehors de toute théorie.

La plupart des germes septicémiques, ainsi que ceux qui jouissent d'un pouvoir envahissant moins marqué et qu'on est obligé, conséquemment, d'injecter dans le péritoine pour tuer les animaux à coup sûr, immunisent, en général, facilement les animaux ; on sait qu'ils forment volontiers aussi des anticorps et notamment des coagulines. Toutefois, lorsque la dose d'épreuve est trop considérable ou l'état réfractaire insuffisant, la destruction des germes n'a plus lieu « silencieusement ». Suivant les cas, on voit alors reparaître la sensibilité normale (insuffisance des coagulines néoformées, action des lysines naturelles) ou se manifester l'hypersensibilité (prédominance des lysines sur les coagulines — néoformées les unes et les autres). Cette dernière se reconnaît, de suite, à la précocité et à l'intensité spéciales de la réaction locale; et à sa faible durée, si la dose de microbes injectée n'est pas trop grande. L'hypersensibilité éclate aux yeux lors de l'épreuve sous-cutanée ; quand

on inocule les germes dans le péritoine, une hypothermie précoce révélera nettement la libération rapide du poison vrai. Voici, à cet égard, un exemple typique, fourni par Vaughan *junior :* tandis que l'hypothermie ne survient qu'après 8 heures, chez les cobayes neufs auxquels on injecte le *b. coli* vivant, à dose mortelle, dans le péritoine, elle apparaît au bout d'une heure chez les « cobayes-résidus », éprouvés avec la même dose de virus (non mortelle pour eux). Quand on hyperimmunise les chevaux, aux fins d'obtenir des sérums antimicrobiens (b. typhique, *b. coli*, b. de la peste ...), c'est-à-dire quand on administre de grandes quantités de germes vivants, l'*immunité se double toujours d'une hypersensibilité marquée*, qui enlève de temps en temps des animaux (avec le « syndrome de Vaughan ») lors des injections intraveineuses et que l'on met, *à volonté*, en évidence par les injections sous-cutanées (nous retrouvons, encore une fois, ici l'influence de la masse et du mode d'introduction de l'antigène). A la vitesse de destruction excessive qui caractérise l'hypersensibilité, nous pouvons, avec les microbes vivants, opposer, *preuve en mains*, la lenteur de destruction, parfois très marquée, à laquelle on reconnaît l'immunité : il n'est pas rare, chacun le sait, de rencontrer des germes encore cultivables chez les sujets réfractaires, sacrifiés quelques jours, quelques semaines même (quelques mois, s'il s'agit des spores) après une inoculation d'« épreuve ». Toutefois, dès que le nombre de ces germes cultivables demeure tant soit peu notable passé une certaine limite, il signifie : insuffisance numérique manifeste des anticorps, imminence du réveil des microbes et tendance à leur adaptation.

Nous voici arrivés aux maladies chroniques.

Pour nous, *la chronicité résulte d'une double adaptation incomplète :* l'organisme « se fait » au microbe et le microbe à l'organisme, mais jamais entièrement (ou, alors, la chronicité cesse *ipso facto*). Tandis que, dans les affections aiguës, l'une des deux accoutumances l'emporte rapidement sur l'autre, il s'établit ici une « cote mal taillée ». Equilibre de nature instable et susceptible, cependant, de durer parfois des années, avec oscillations de çà et de là (parfois même sans oscillations appréciables pendant un laps considérable et, peut-être, pendant toute

la vie — syphilis, piroplasmose des bovidés « indigènes »).

Chez l'homme ou l'animal tuberculeux, l'adaption de l'économie se traduit par la formation d'anticorps (dominance habituelle des lysines); l'adaptation des germes, par l'insensibilité, plus ou moins marquée, vis-à-vis de ces anticorps (que révèle, au contraire, bruyamment tout bacille spécifique *non accoutumé*, à peine introduit (phénomène de Koch). De même, pour l'homme ou l'animal morveux. Dans la tuberculose et la morve, l'organisme peut avoir le dessus, en fin de compte (guérison, avec persistance de la lysine durant un temps variable); le microbe aussi, trop souvent. Dans la syphilis, l'économie peut fléchir temporairement, mais conserve toujours les moyens de se reprendre, car on ne meurt guère que de lésions « mal placées » ou d'infections secondaires. Dans la piroplasmose, il faut l'entrée en scène d'un agent très grave (virus de la peste bovine), pour détruire l'adaptation de l'organisme (Adil-bey et l'un de nous).

Comment se manifeste l'*hypersensibilité vis-à-vis des germes d'infection chronique*? C'est là une question pleine d'intérêt, au point de vue du jeu des anticorps, car nous allons avoir affaire ici, en dehors des réactions locale et générale (déjà étudiées avec les microbes morts), à la *réaction à distance*, propre aux foyers qui contiennent des microbes vivants. Examinons ce qui survient dans la tuberculose et la morve.

Tuberculose. — Wassermann et Bruck admettent que l'organisme des sujets tuberculeux produit une « antituberculine », laquelle offre les caractères d'un ambocepteur et se retrouve au sein des humeurs et des granulômes. Les foyers attirent l'antituberculine et celle-ci attire les compléments; d'où digestion et ramollissement des lésions.

Pour nous, l'antituberculine n'est autre que la lysine de l'« endotoxine tuberculeuse »; on la met facilement en évidence, grâce au procédé de Bordet-Gengou, ainsi que nous avons pu le constater après W. et B. Lorsque l'on injecte l'« endotoxine tuberculeuse » (bacilles vivants ou morts, tuberculines diverses) sous la peau d'un sujet hypersensible, elle est décomposée par la lysine homologue, avec mise en liberté du poison vrai, qui engendre les accidents caractéris-

tiques. La réaction locale traduit alors une concentration notable de l'anticorps dans les humeurs; la réaction éloignée, une concentration notable dans les foyers (W. et B.); la réaction générale, une influence nocive du poison vrai sur les centres, thermiques ou autres. La réaction à distance, isolée, indique une prédominance marquée de la lysine au sein des lésions; la réaction locale, isolée, un épuisement des foyers (W. et B.). Toutes ces variantes rentrent dans la loi générale de formation et de distribution des anticorps. On sait, en effet, que les anticorps commencent par prédominer là où ils prennent naissance, c'est-à-dire au niveau des organes hématopoiétiques, puis abandonnent peu à peu leur lieu d'origine. Le sérum se trouve donc, suivant l'époque considérée, moins riche, aussi riche ou plus riche que le système formateur des anticorps. A ce système normal s'ajoute, dans les maladies chroniques, le système pathologique, représenté par l'ensemble des granulomes — et voilà tout.

Morve. — L'un de nous ayant étudié, pendant plusieurs années, l'infection morveuse du cobaye, on nous excusera de consacrer à celle-ci plus de développement qu'à la tuberculose. Peu importe d'ailleurs, car les deux affections demeurent absolument comparables au point de vue qui nous occupe.

On a fait voir, dans les recherches dont nous parlons, que les bacilles morveux vivants hypersensibilisent les animaux aux germes morts et aux germes vivants, en vertu d'un mécanisme identique ici et là. Examinons brièvement ces deux cas.

Hypersensibilité aux microbes morts. — Etant donnée la valeur diagnostique communément attribuée à cette hypersensibilité, il ne sera peut-être pas inutile de remettre les lignes suivantes sous les yeux du lecteur.

« Voici un cobaye, sain d'aspect, lequel a été soumis, sans inconvénients visibles, à des injections répétées de microbes vivants, ou bien semble guéri d'une infection morveuse (infection ordinaire, infection d'épreuve...). Nous lui injectons, sous la peau, 1 centigramme Mαε, (bacilles tués par l'alcool-éther) ; de deux choses l'une : la *réaction locale* sera normale ou non ; que penser dans chaque cas? La réaction normale constitue une *très forte présomption* en faveur de l'absence de germes vivants ; toutefois, il faut donner à ceux-ci le temps nécessaire pour se manifester, s'ils n'ont point totalement disparu ou, mieux encore, réitérer l'administration de 1 centigramme Mαε. La réaction anormale n'a *aucune valeur;* si le virus

ne se montre point après une première injection de $M\alpha\varepsilon$, on la recommencera; s'il n'apparaît pas davantage après la seconde, nous n'hésiterions guère, pour notre part, à affirmer la guérison ; s'il continue à ne pas se révéler après la 3e (*a fortiori* la 4e, la 5e...), qui pourrait conserver des doutes sur cette guérison ? La réaction anormale indique donc *uniquement* que l'organisme s'est trouvé aux prises, à un moment donné, avec le bacille morveux vivant (ou même, verrons-nous plus tard, avec le b. morveux mort — ou encore avec d'autres germes) ; ce moment peut être passé ou non : dans le second cas, le virus tardera rarement à « sortir » et cette « sortie » constitue le *seul* signe d'une infection *actuelle*.

La *réaction générale* ne semble point, comme nous l'avons déjà indiqué brièvement, affecter de rapports réguliers (direct ou inverse) avec la réaction locale: sa valeur diagnostique (*quoad infectionem*) est encore moins grande, si possible, que celle de cette dernière.

Les conclusions précédentes n'auraient sans doute pas été très bien accueillies lors des hécatombes en masse qui ont marqué les débuts de la malléinisation. Aujourd'hui, on ne condamne plus impitoyablement à mort tous les chevaux coupables d'avoir réagi, car on a fini par s'apercevoir que beaucoup d'entre eux guérissaient assez rapidement, *sans présenter de signes cliniques*. On n'a jamais eu l'idée qu'une fraction plus ou moins grande de ceux-ci pouvait être déjà guérie avant l'injection de malléine. »

Voici, maintenant, comment était interprété le réveil des lésions morveuses latentes, à la faveur de deux autres cas qui le font mieux comprendre. (Nous abrégeons la citation.)

Comment expliquer *le réveil des lésions morveuses latentes*, éventuellement suivi de « métastases » ? Pour tâcher d'y arriver, examinons d'abord un cas plus simple, celui des cobayes chez lesquels on introduit deux fois $M\alpha\varepsilon$ (bacilles tuées par l'alcool-éther) sous la peau, la seconde fois avant que les phénomènes locaux, consécutifs à l'injection précédente (pratiquée loin de là), aient complètement rétrocédé. Le nodule induré, qui représente le dernier vestige de cette injection, devient alors le siège d'une *réaction à distance*, d'intensité variable, mais que nous avons toujours vue se terminer par résorption. Ce nodule, « ce gros tubercule morveux artificiel », pourrait-on dire, contenait donc un excès d'anticorps spécifiques, et ces anticorps ont réagi au passage des substances bacillaires venues du point de la seconde injection — Envisageons, maintenant, le cas d'animaux guéris d'un abcès d'inoculation virulente, mais encore porteurs d'un petit ganglion inguinal, qui s'enflamme et peut suppurer après administration, à distance, de bactéries mortes Ce ganglion ne diffère de notre « tubercule morveux artificiel » de tout à l'heure que par la présence éventuelle de quelques microbes vivants; il contient donc un excès d'anticorps, susceptible de déterminer, comme tout à l'heure, une réaction plus ou moins forte; pourquoi cette réaction est-elle suivie de multiplication du virus intraganglionnaire, voire de généralisation ? On répondra, sans doute, que : « réaction = intoxication » et que : « intoxication = paralysie des défenses de l'orga-

nisme. » Cette *explication, d'ordre général*, ne tient aucun compte d'autres mécanismes favorisants possibles, *de nature spécifique ;* nous y reviendrons bientôt. — Citons, enfin, un troisième cas, fort intéressant lui aussi, et ne différant du premier qu'en ce qu'on inocule des microbes vivants sous la peau des cobayes incomplètement guéris d'une injection antécédente de microbes morts; ici encore, le « tubercule morveux artificiel » s'enflamme très nettement (puis se résorbe). Le virus « vivant » n'a agi dans ce cas que par les germes déjà morts qu'il contenait, ou par ceux, très affaiblis, que l'organisme a rapidement détruits. »

En écrivant ce qui précède, on a mis volontairement le mot « anticorps » au lieu du mot « lysine », pour des raisons déjà indiquées. Sauf ce détail, nous ne voyons rien à changer; mais il nous faut approfondir davantage le mécanisme de la « sortie » du virus. La multiplication des bacilles morveux (comme celle des bacilles tuberculeux, dans le cas correspondant) résulte logiquement de la consommation de la lysine spécifique au cours de la réaction d'hypersensibilité et de la lenteur de sa régénération. Les microbes, n'étant plus « bridés » par l'anticorps homologue, ont le temps de se développer librement. La chute du pouvoir lytique engendre une seconde conséquence, de même nature que la précédente, mais d'apparence opposée; elle rend inefficace, pour quelque temps, toute nouvelle introduction d' « endotoxine », d'où une immunité momentanée vis-à-vis de celle-ci (immunité comparable à l' « anti-anaphylaxie » de Besredka et Steinhardt, étudiée ailleurs).

Le *réveil et* le *développement des infections étrangères*, constituant ce que l'un de nous a appelé les « phénomèmes secondaires de l'hypersensibilité » s'expliquent de la même façon que le réveil de l'infection homologue; on y reviendra en parlant des anticorps normaux, afin de ne pas trop surcharger le chapitre présent.

Hypersensibilité aux microbes vivants. — Rappelons simplement ce fait (observé par l'un de nous) : si l'on injecte à plusieurs reprises, sous la peau des cobayes, une dose *inoffensive* de bacilles morveux, il arrivera un moment où se formeront des nodules plus ou moins marqués et plus ou moins durables (toujours absents chez les témoins « neufs »), voire de petits abcès (fertiles).

Comment se présente l'immunité vis-à-vis des germes d'infection

chronique? Il est difficile de vacciner les animaux contre la tuberculose, moins malaisé de les rendre réfractaires à la morve. Dans ses recherches sur l'immunité morveuse, l'un de nous a précisé nettement (pour la première fois, pensons-nous) les relations que peuvent affecter l'une avec l'autre l'immunité et l'hypersensibilité, ainsi que le prouve le passage suivant, que l'on va rapporter (en l'abrégeant).

« Ceci nous amène à indiquer de quelle manière nous nous représentons les *rapports qui unissent l'hypers. à l'immunité*. Pour nous, toutes les fois que l'on « immunise » un cobaye contre la morve, il se forme, parallèlement, dans son organisme (bien qu'en proportions variables selon les cas), des *substances antimicrobiennes* et des *substances présidant à l'hypers.* — ou, pour employer le langage des téléologues, de « bons » et de « mauvais » anticorps.

Si, à la suite de l'immunisation, *les « mauvais » anticorps prédominent*, les cobayes, après avoir réagi anormalement à l'épreuve par les microbes morts [1 centigramme Mαε (bacilles tués par l'alcool-éther) sous la peau], ne résisteront point à l'épreuve par les microbes vivants. Inutile d'attendre la fin de l'hypers. pour pratiquer l'épreuve virulente, les « bons » anticorps ayant disparu, bien entendu, avant les « mauvais ».

Si, à la suite de « l'immunisation », *les « bons » anticorps prédominent*, les cobayes, après avoir réagi normalement à l'épreuve par les microbes morts, résisteront à l'épreuve par les microbes vivants. Il n'y a même pas besoin d'attendre la fin de l'hypers., car les animaux, après avoir réagi anormalement à l'épreuve par les microbes morts, résisteront parfaitement à l'épreuve par les microbes vivants. Il est à remarquer que, lors de celle-ci, l'hypers. continuera parfois à se manifester par une évolution plus rapide des lésions initiales. On va nous demander, immédiatement, si, étant donnés deux cobayes « immunisés » tous les deux et hypers., nous pouvons distinguer celui où prédominent les « bons » anticorps de celui où prédominent les « mauvais ». Nous avouons être incapable d'un tel diagnostic, mais le fait que des sujets hypers. puissent résister à l'infection n'est point exceptionnel et ne saurait s'expliquer autrement que par une prédominance des substances antimicrobiennes sur les substances qui déterminent l'hypers. Ces deux ordres de substances sont donc parfaitement indépendantes les unes des autres et agissent aussi indépendamment. Et *un animal hypers. peut être non seulement un animal guéri, mais encore un animal vacciné!* »

Dans l'esprit de l'auteur des lignes qui précèdent, « bons anticorps » signifiait coagulines et « mauvais anticorps » correspondait à lysines.

Concluons qu'il est excessivement difficile de réaliser une concentration suffisante des coagulines chez les sujets traités

par les agents des affections chroniques, sans quoi le problème de l'immunisation contre ces maladies serait définitivement résolu.

Nous terminerons ce long chapitre en disant quelques mots de l'*immunité* et de l'*hypersensibilité passives*, vis-à-vis des germes vivants.

L'immunité antimicrobienne peut se transmettre, soit *artificiellement*, par les sérums (Richet et Héricourt), soit *naturellement*, par l'hérédité (expériences de Vaillard, Remlinger, Widal et Sicard...).

Bail (après Löwenstein) a démontré, grâce à une expérience connue, que l'hypersensibilité pouvait être également transmise par les humeurs. On injecte, dans le péritoine d'un cobaye tuberculeux, des quantités suffisantes de bacilles spécifiques. L'animal meurt rapidement, offrant un exsudat abdominal abondant. On centrifuge cet épanchement; on mêle le liquide clair surnageant avec des proportions convenables de bacilles tuberculeux et on inocule le tout dans le péritoine d'un cobaye neuf. Celui-ci succombe, le plus souvent avant 24 heures. (Nous n'avons pas à insister, ici, sur certains détails de l'expérience de Bail.)

RAPPORTS ENTRE LES ANTICORPS DES ALBUMINOIDES ET CEUX DES CELLULES ET DES « TOXINES SOLUBLES » — « TOXINES SOLUBLES » ET « ENDOTOXINES ».

Ainsi que nous allons le voir, il n'y a lieu d'établir aucune différence entre les anticorps des albuminoïdes et ceux des cellules. Par contre, nous pensons que les anticorps des « toxines solubles » doivent former, comme par le passé, un groupe nettement séparé. Cette distinction va nous amener à approfondir le parallèle des « toxines solubles » et des « endotoxines », simplement indiqué dans le travail précédent.

I

Les sérums, agglutinants pour telles ou telles cellules, préci-

pitent d'ordinaire les albuminoïdes dérivés de ces cellules (extraits cellulaires, filtrats microbiens); réciproquement, les sérums, précipitants pour tels ou tels albuminoïdes, agglutinent les cellules dont proviennent ceux-ci. Il est facile d'expliquer le manque de parallélisme (souvent mentionné) entre le pouvoir agglutinant et le pouvoir précipitant, ou l'apparition isolée (assez rare) d'une seule de ces propriétés. D'abord, les conditions expérimentales de l'agglutination et de la précipitation sont absolument différentes et ne varient pas forcément dans le même sens, d'une recherche à l'autre; ensuite, les animaux qui fournissent les sérums agglutinants ou précipitants n'ont pas toujours reçu des antigènes rigoureusement comparables aux antigènes (croisés) sur lesquels on les fait agir — loin de là. — Les sérums, contenant des lysines actives vis-à-vis de telles ou telles cellules, en contiennent, habituellement, d'actives vis-à-vis des albuminoïdes dérivés de ces cellules, etc..., *comme dans le cas des coagulines*. Aussi, un sérum cytolytique se montrera-t-il apte à libérer le poison vrai de l'albuminoïde correspondant : le sérum de lapin traité par les hématies de chien ou de bœuf, qui engendre *in vitro*, aux dépens de ces hématies, un poison mortel pour le lapin, se comporte absolument de même à l'égard du liquide de laquage des globules (Batelli). — Du reste, on sait que l'immunité et l'hypersensibilité « actives » vis-à-vis des cellules se réalisent couramment en traitant les animaux avec les dérivés cellulaires; l'imm. et l'hypers. « actives » vis-à-vis des albuminoïdes, en traitant les animaux avec les « cellules-mères ». De même, pour l'imm. et l'hypers. « passives ». Rappelons, à propos de cette dernière, que, dans l'expérience de Bail, les cobayes auxquels on administre, par la voie peritonéale, des bacilles de Koch *ou* de la tuberculine, fournissent des exsudats actifs, *in vivo*, sur les bacilles *et* la tuberculine.

II

Occupons-nous, maintenant, des différences qui séparent *actuellement*, *à nos yeux*, les « toxines solubles » des « endotoxines » ; nous étudierons ensuite les points communs qui les rapprochent.

Les « *toxines solubles* » sont très coagulables ; d'où leur labilité sous l'influence de certains agents et leur aptitude à produire des coagulines (suivant ce qui a été dit dans le travail précédent) — inversement, elles ne sont attaquables, chez les sujets neufs, qu'après un temps d'incubation bien connu — elles représentent des corps à grosses molécules, dialysant généralement fort mal ou même point du tout — elles agissent à doses très faibles, ce qui (joint à leur pouvoir éminemment coagulogène) explique la « force » caractéristique des sérums antitoxiques — elles possèdent une spécificité étroite qui se retrouve dans les anticorps qu'elles engendrent — enfin, elles sont douées d'affinité non seulement vis-à-vis du système formateur des anticorps, mais encore vis-à-vis des « cellules nobles », ainsi qu'il a été antérieurement mentionné. Il convient de continuer à considérer les « toxines solubles » comme de véritables secrétions.

Les « *endotoxines* » sont moins coagulables que les « toxines solubles » (quelquefois même très peu) ; d'où leur stabilité sous l'influence de certains agents — inversement, elles sont bien plus sensibles aux lysines ; d'où leur aptitude à engendrer ces dernières ; d'où, également, la mort rapide des sujets neufs qui reçoivent des « endotoxines toxiques » — elles représentent des corps à molécules plus petites que celles des tox. sol. et dialysant relativement assez bien (expériences de de Waele) — elles agissent à doses toujours appréciables, ce qui (joint à leur pouvoir éminemment lysogène et, partant, peu coagulogène) explique la « faiblesse » caractéristique des sérums antiendotoxiques — elles possèdent une spécificité moins étroite que celle des tox. sol. et les anticorps qu'elles engendrent reflètent cette imperfection relative — enfin, elles ne sont guère douées d'affinité que pour le système formateur des anticorps, ce qui ne les empêche point d'offrir, parfois, une *électivité* très nette — l'un de nous n'a-t-il pas établi, avec Frouin, que le b. morveux, même « dissous » par la pipéridine, conserve la faculté de déterminer les lésions typiques de la vaginale chez le cobaye mâle ? Il convient de considérer les « endotoxines » comme « l'essence même de la substance des cellules » (laquelle se retrouve dans les humeurs, extraits cellulaires et filtrats microbiens).

Pour nous, les *endotoxines* sont formées d'un *élément* non toxique, *spécifique* et antigène [1] — et d'un *élément toxique*, banal et non antigène. C'est ce qui résulte des recherches de Vaughan et des nôtres. Le « résidu » et le « poison » du savant américain ne représentent point, avons-nous dit, les deux constituants des endotoxines dans leur intégrité réelle; loin de là, mais ils en ont conservé à coup sûr les propriétés fondamentales.

Les poisons vrais des diverses endotoxines sont certainement très voisins les uns des autres, à en juger par l'identité absolue des symptômes qu'ils déterminent, lorsqu'une décoagulation brutale vient à les libérer rapidement, c'est-à-dire quand l'*élément spécifique* s'efface devant l'*élément toxique*. Il en va tout autrement dans le cas d'une décoagulation ménagée et la grande variété des signes cliniques observés révèle la dominance de l'élément spécifique, porteur d'une *électivité* et d'une « *solubilité* » très variables, selon le poison brut administré. Inutile d'ajouter que la symptômatologie se complique à l'infini, quand il s'agit d' « endotoxines vivantes » (microbes pathogènes), c'est-à-dire lorsqu'intervient le facteur « adaptation de l'antigène ».

Nous admettons que les « *toxines solubles* » comportent aussi un *élément spécifique* et un *élément toxique*, parce que toute leur histoire impose cette conclusion. La nature des poisons vrais varie peu également d'une toxine à l'autre, comme le démontre l'identité des phénomènes, dans les cas de mort rapide (animaux hypersensibles); au contraire, la haute spécificité des toxines, observée dans les circonstances ordinaires (animaux neufs), suffit à établir la diversité de leurs constituants antigènes. [Courmont et Doyon avaient jadis parlé de poison vrai, lors de leurs études sur la toxine tétanique; mais, d'après ces auteurs, celui-ci serait engendré, aux dépens de l'organisme, par la toxine agissant comme ferment — opinion diamétralement opposée à la nôtre.

L'analogie des symptômes que détermine la *décoagulation brusque de tous les antigènes*, quels qu'ils soient, conduit, en fin de compte, à supposer que les poisons vrais des endotoxines et ceux des toxines solubles pourraient bien n'être pas très éloignés les uns des autres.

1. C'est donc contre lui *seul* que sera dirigé l'anticorps correspondant.

A côté des toxines solubles « classiques » et des endotoxines « classiques » (antigènes) se rencontrent un certain nombre de *poisons* encore *mal déterminés;* il conviendra de voir s'ils représentent des types intermédiaires ou des corps d'un genre nouveau. Il conviendra, également, de reprendre l'étude de beaucoup de liquides et de cellules, au point de vue de la coexistence des toxines et des endotoxines et de la multiplicité, soit des unes *ou* des autres, soit des unes *et* des autres.

Enfin, parmi les antigènes qui n'appartiennent sûrement point au groupe des toxines ni à celui des endotoxines rappelons, pour terminer, la grande famille des *enzymes* dont quelques membres peuvent exercer, *in vivo*, une influence des plus néfastes, qui les place, sans contredit, au rang des pires agents nuisibles.

Paris, août 1907.

Nouvelles recherches sur la toxine et l'antitoxine cholériques

Par le Dr A. SALIMBENI

(Travail du laboratoire de M. Roux.)

On ne discute plus à l'heure actuelle l'existence d'un poison soluble dans les cultures en milieu liquide du vibrion cholérique.

Ramson [1] le premier, sans d'ailleurs donner aucun détail sur la manière de le préparer, le décrivit en 1895, et il annonça en même temps qu'en accoutumant peu à peu les animaux à l'action de ce poison il avait obtenu un sérum antitoxique.

M. Pfeiffer [2], qui, dès 1892, avait nié l'existence d'une toxine cholérique soluble et qui, d'accord avec M. Gamaleia [3], plaçait le véritable poison cholérique dans le corps des vibrions d'où il ne sortirait qu'à la mort de ceux-ci, s'éleva contre les affirmations de M. Ramson. Pour M. Pfeiffer, la toxine de M. Ramson n'était point la vraie toxine cholérique, mais sans doute une modification de celle-ci. Quant aux propriétés antitoxiques du sérum, il ne les croyait pas supérieures à celles du sérum normal provenant de divers animaux. Notre premier mémoire, en collaboration avec MM. Roux et Metchnikoff [4], dans lequel nous donnions tous les détails de la méthode qui nous avait permis de préparer la toxine cholérique et d'obtenir un sérum antitoxique, parut quelques mois après.

Sans prendre parti en faveur de l'une ou de l'autre des opinions à cette époque et aujourd'hui même en présence, nous affirmions cependant que la production de ce poison, résistant à la température de l'ébullition et à effet très rapide chez les animaux sensibles, devait être considérée comme intimement liée au pouvoir toxigène du microbe d'une part, et d'autre part au milieu de culture et aux conditions spéciales dans lesquelles la culture est faite.

Le sérum des animaux qui ont reçu de la toxine cholérique, disions-nous, fournit un sérum dont le pouvoir antitoxique

1. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1895, nº 5.
2. *Zeitschrift f. Hygiene*, 1895, Vol. 20. *Deutsch med. Wochenschrift* 1896, nos 7-8.
3. *Arch. de méd. expérimentale*, 1892.
4. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, nº 5.

spécifique est d'autant plus actif que l'immunisation a été poussée plus loin.

Le pouvoir antitoxique du sérum de notre cheval, le mieux immunisé en 1896, était à vrai dire plutôt faible; il en fallait 1 c. c. pour protéger un cobaye vis-à-vis d'une injection de 4 doses mortelles de toxine. Et cependant ce même sérum se montra très efficace à titre préventif et donna, comme curatif, de très bons résultats dans le choléra intestinal des jeunes lapins provoqué expérimentalement d'après la méthode de M. Metchnikoff.

Le sérum normal, au contraire, affirmions-nous plus loin, ne possède pas de propriétés antitoxiques appréciables vis-à-vis de la toxine cholérique.

Comme M. Pfeiffer autrefois, M. Kraus[1] dans ses recherches sur la toxine du vibrion de Nasik[2], et plus tard ce même auteur en collaboration avec M. Pribram[3], dans leurs recherches sur la toxine des 6 vibrions d'El-Tor, ont reconnu au sérum normal (chèvre, lapin, cheval) un pouvoir antitoxique qui ne diffère de celui des animaux vaccinés que par le temps nécessaire à la neutralisation de la toxine. Il faudrait, en effet, d'après ces auteurs, de 20 minutes à une 1/2 heure de contact *in vitro* pour que le sérum neuf neutralise une quantité de toxine qui serait neutralisée en 5 minutes par la même dose d'un sérum préparé.

Voici résumé en quelques mots tout ce que, dès nos premières expériences, nous avions observé à ce sujet.

Lorsqu'on injecte à des animaux sensibles (cobaye) une dose minima mortelle de toxine mélangée à son volume ou à deux volumes de sérum normal, on voit fréquemment les animaux ainsi traités se rétablir complètement, après avoir toutefois présenté les phénomènes, toujours plus ou moins graves, qui caractérisent l'intoxication cholérique expérimentale. Parfois

1. *Centralbl. f. Bakt.* Vol. 34, n° 6.

2. Ce vibrion a été isolé par M. Simond à Nasik (Indes anglaises) d'un cas typique de choléra. M. Kraus, cependant, ne le considère pas comme un vrai cholérique parce que, en présence du sérum spécifique, il n'est pas agglutiné au même titre qu'un cholérique authentique; son sérum n'agglutine que très peu les vrais cholériques, et enfin cultivé en milieu liquide, donne une hémolysine et un poison soluble à effet rapide, ce qui, d'après Kraus, n'existe jamais dans les cultures de vrai cholérique. Nous verrons dans la suite qu'il a changé d'avis pour ce qui concerne le pouvoir toxigène de vibrions cholériques authentiques.

3. *Wien. Klinisch. Wochenschrift*, 1905, n° 39.

aussi, des animaux ayant reçu sous la peau ou dans le péritoine 2-3 c. c. de sérum neuf résistent 24-48 après à l'injection d'une dose minima mortelle de toxine. Mais, si au lieu de la dose minima, nous en prenons deux ou même une et demie, nous pouvons augmenter en proportion et davantage la quantité de sérum neuf : cela n'empêchera pas les animaux de périr sans exception.

Pouvait-on parler dans de pareilles conditions d'un pouvoir antitoxique du sérum neuf? Nous ne le pensions et nous ne le pensons pas. Il est de toute évidence que la résistance individuelle des animaux joue un rôle non négligeable toutes les fois que, pour n'importe quel poison, microbien ou autre, nous opérons aux environs de la dose minima mortelle. On pourrait tout au plus admettre que la résistance d'un animal peut être jusqu'à un certain point renforcée par le sérum neuf; mais de là à conclure à un pouvoir antitoxique il y a une barrière que nous ne saurions franchir.

Il nous reste, pour compléter ce bref résumé historique, à dire quelques mots sur les travaux de M. Kraus et de MM. Brau et Denier. MM. Brau et Denier en adoptant notre technique (cultures en couche mince et large surface, vibrions n'ayant jamais fait de passages par les animaux comme matériel d'ensemencement) ont obtenu, sur un milieu spécial, une très bonne toxine cholérique, qui répond d'ailleurs aux caractères de celle décrite par nous. Le milieu préconisé par MM. Brau et Denier n'est autre que du sérum de cheval additionné de 10 0/0 de sang de cheval défibriné; les deux âgés de trois semaines.

Au moment de s'en servir, on chauffe le mélange à 60° pendant trois heures, on ensemence largement, et on filtre après 7 jours d'étuve à 38°. En se basant sur les propriétés de la toxine ainsi obtenue et sur le fait que la toxicité du liquide augmente jusqu'au 7e jour, tandis que, à partir du 4e il n'y a plus de microbes vivants dans leurs cultures, les auteurs concluent que la production de cette toxine semble liée à la macération des vibrions.

Quant à M. Kraus[1], il a tout d'abord contesté tout pouvoir toxigène aux vibrions cholériques vrais.

Bien plus, en se basant sur le fait que le vibrion de Nasik

1. *Loc. cit.*

(qu'il ne reconnaît pas comme cholérique), donne, en milieu liquide, un poison très actif, il en avait conclu que tout vibrion donnant un poison soluble ne devait pas être considéré comme un vrai cholérique.

Plus tard, en opérant avec des vibrions authentiques isolés en Indo-Chine par M. Brau et que nous avons mis à sa disposition, il a pu se convaincre que les vrais cholériques donnent aussi un poison soluble[1].

Préparation de la toxine cholérique.

Nous avons apporté bien peu de modifications à la méthode qne nous décrivions en 1896 pour la préparation de la toxine cholérique.

La proportion de sérum de cheval à ajouter à la solution gélatine-peptone a été portée de 10 à 25 0/0 ; les boîtes de Pétri, mal commodes et sujettes à de nombreuses causes de contamination, ont été remplacées par les flacons-boîtes Roux, dont le modèle fut conçu pour la préparation de la toxine cholérique. Le milieu, une fois réparti dans les boîtes dans la proportion de 50 c. c. par boîte, est chauffé pendant 3 heures à 60°, puis largement ensemencé.

Comme peptone, nous employons toujours la solution obtenue d'après la méthode Martin[2], par la digestion de 200 grammes d'estomac de porc dans 1 litre d'eau additionnée de 10 c. c. d'acide chlorhydrique pur. La peptone ainsi préparée donne des résultats plus constants que les peptones qu'on trouve dans le commerce et dont la composition est si variable.

Le degré d'alcalinité du milieu joue aussi un rôle très important dans la production de la toxine cholérique.

De nombreuses recherches comparatives nous ont montré que l'*optimum*, comme alcalinité, est obtenu en ajoutant à la solution gélatine-peptone neutre au tournesol, 12 c. c. de soude normale par litre.

Le vibrion dont nous disposions en 1895 avait été isolé à Hambourg et provenait de l'épidémie qui avait sévi en Prusse en 1894.

1. *Handbuch der Tecknik und Method. der Immunitätschfarchung*, LEVADITI et KRAUS, 1907, p. 177-178 et suiv.
2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, n° 1.

En travaillant avec ce vibrion, M. X... s'infecta et eut une légère attaque de choléra. Plus tard, en 1895, au cours de nos recherches, ce même vibrion provenant du cas de M. X... détermina accidentellement, chez nous, une infection cholérique des plus caractéristiques. Isolé de nos déjections et identifié avec le vibrion de M. X... par M. Metchnikoff, il existe encore dans notre collection où il est catalogué sous la dénomination de vibrion de la Prusse orientale.

Ce n'est certainement pas en vue de son importance anecdotique que nous avons tenu à détailler l'état civil de ce vibrion. Nous nous y sommes décidé en vue surtout de répondre à certaine critique que M. Kraus ne manque jamais de nous faire au sujet de la nature cholérique du vibrion employé par nous lors de nos premières recherches. Cet auteur, en effet, admet bien que MM. Brau et Denier ont obtenu la toxine cholérique soluble ; il admet aussi que cette toxine ne diffère pas essentiellement de celle décrite par nous ; et cependant, par le fait que nous avons oublié de déclarer que notre vibrion avait été caractérisé au moyen de l'agglutination et du phénomène de Pfeiffer, il conclut, après une critiqne que lui-même reconnaît comme très sévère, qu'on ne peut pas dire que nous ayons eu à faire à la vraie toxine cholérique[1].

Terminons donc cette petite digression en assurant M. Kraus que le vibrion de la Prusse orientale donne bien l'agglutination et le phénomène de Pfeiffer avec un sérum spécifique. Ne la donnerait-il pas que les deux infections de laboratoire dont il fut l'agent seraient, à notre avis, plus que suffisantes à établir sa nature cholérigène.

En 1895, au début de nos recherches, la virulence du vibrion de la Prusse orientale avait été considérablement renforcée par la méthode classique des passages successifs dans le péritoine de cobayes ; cependant son pouvoir toxigène était vraiment minime.

C'est en le cultivant dans des sacs de collodion introduits dans la cavité péritonéale des cobayes, que nous avions pu très vite renforcer son pouvoir toxigène et l'entretenir.

Dans cette méthode des sacs permettant de cultiver le

1. *Handbuch der Tecknik und Method. der Immunitätsfarschung*, Levaditi et Kraus, 1907, p. 177-178.

vibrion *in vivo* et à l'abri des cellules de l'organisme, nous avions cru voir un moyen de renforcer et d'entretenir d'une façon générale la toxicité des vibrions cholériques.

De nombreuses recherches comparatives nous ont montré, dans la suite, que cette méthode est tout à fait inutile pour des vibrions provenant directement des déjections cholériques et n'ayant jamais fait de passage par les animaux. Ces vibrions possèdent au maximum leur pouvoir toxigène, qui varie souvent d'un échantillon à l'autre et qui n'est pas toujours en rapport avec la gravité de l'attaque qu'il a déterminé.

Il n'est pas rare, en effet, d'isoler des vibrions très toxiques des cas de choléra tout à fait bénins, tandis que des cas de choléra très graves donnent parfois des vibrions très peu actifs sur nos milieux de culture.

De toute façon, lorsqu'on rencontre un vibrion toxique provenant directement d'un cholérique, ce qu'il y a de mieux à faire pour lui conserver le plus longtemps possible son pouvoir toxigène, c'est de l'entretenir par de rares passages sur la gélose peptonisée, à la température de la chambre.

C'est en 1898, sur un certain nombre de vibrions isolés dans l'Inde par M. Simond, que nous fîmes cette constatation, que nous avons pu d'autre part contrôler pendant les deux dernières années sur 35 races de vibrions isolés par MM. Brau et Denier en Indo-Chine (1903-1904-1905) et par M. Denier à Manille (1906).

La méthode des sacs garde cependant toute sa valeur pour remonter, comme toxicité, un vibrion dont le pouvoir toxigène serait affaibli par des passages chez les animaux; les résultats sont moins bons quand il s'agit de vibrions affaiblis par un long séjour sur les milieux artificiels de cultures.

Le vibrion dont nous nous servons en ce moment vient de Manille, où il a été isolé par M. Denier en 1906. Il est catalogué dans notre collection sous la dénomination : *Manille n°* 13, 1906. Il est un des plus toxiques que nous ayons jamais rencontré.

Sur notre milieu, dont nous avons donné plus haut la formule, ou sur le milieu de Brau et Denier, largement ensemencés avec des cultures sur géloses jeunes de 16-18 heures, il donne assez régulièrement, au bout de 7 jours d'étuve à 38°, une toxine qui tue un cobaye de 200 grammes à la dose de 2/3 de c. c.

Entre la toxine obtenue sur le milieu de Brau et Denier et

celle obtenue sur le nôtre, il n'y a pas de différences appréciables.

Le maximum de toxicité dans les deux cas est atteint vers le 7e jour : les deux produits résistent à la température de l'ébullition, sont précipités par l'alcool fort et le sulfate d'ammoniaque, dialysent à travers une membrane de collodion et déterminent, chez les animaux sensibles à des doses comparables, les mêmes symptômes toxiques. Seul chez le lapin, en injection intraveineuse, la toxine de Brau et Denier s'est montrée plus active que la nôtre. D'autre part, les animaux vaccinés vis-à-vis de l'une de ces toxines le sont aussi pour l'autre, et la même réprocité existe pour les sérums antitoxiques respectifs.

Le rendement toxique sur le milieu de Brau et Denier est plus constant. C'est le seul avantage qu'on peut lui reconnaître, et cela tient très probablement à ce que la composition de leur milieu (sérum et sang défibriné) n'est pas sujette aux petites variations inévitables dans la préparation des solutions artificielles.

Toxicité de corps des vibrions. — Endotoxine cholérique.

Les corps de vibrions cholériques sont toxiques. 8-10 milligrammes de corps humides provenant d'une culture sur gélose de 18 heures, tués par les vapeurs de chloroforme ou par un cha age à 65° pendant 1 heure, tuent un cobaye de 250 grammes avec les symptômes caractéristiques de l'intoxication cholérique.

C'est encore à M. Pfeiffer [1] que nous devons la série de recherches la plus complète à ce sujet.

D'après cet auteur, l'action toxique des vibrions est due à un poison contenu dans les corps mêmes des microbes et qui doit très vraisemblablement exister comme un des éléments constituant le protoplasma bactérien. Ce poison, qu'il appelle *primaire*, se transformerait, par l'action de l'alcool fort, de l'ébullition ou d'un chauffage prolongé à 60°, en un poison *secondaire* beaucoup moins actif. Les faits avancés par M. Pfeiffer sont tout à fait exacts. L'alcool, l'ébullition, le chauffage prolongé à 60° diminuent le pouvoir toxique des corps de vibrions. Il reste à savoir si et jusqu'à quel point l'explication donnée par M. Pfeiffer est exacte.

1. *Loc cit.*

Peut-on extraire et avoir en solution dans l'eau le poison cholérique renfermé dans les corps de vibrions?

Les différentes méthodes qui ont donné de si bons résultats pour la préparation des endotoxines typhiques, pesteuses et dysentériques, appliquées au vibrion cholérique, n'ont pas donné de résultats bien satisfaisants. Strong [1], par la simple macération dans l'eau de vibrions provenant de cultures sur géloses âgées de 20 heures, (de 1 à 24 heures à 60°, puis 2-5 jours à 37°), a obtenu par filtration un liquide dont 2-3 c. c. en injection intraveineuse tuent un lapin de 1,500 grammes.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats en modifiant la méthode de M. Strong. Voici notre procédé. Les vibrions provenant des cultures sur gélose âgées de 18 heures sont mis en suspension dans de l'eau salée faible légèrement alcalinisée (0,25 0/0 de chlorure de sodium et 0,10 0/0 de carbonate de soude) et placés à l'étuve à 38° dans des tubes aussi remplis que possible et fermés à la lampe. Au bout de 24 heures, on les chauffe 1 heure à 60° et on les abandonne à la température du laboratoire, à l'abri de la lumière, jusqu'à ce que la plupart des microbes soient tombés au fond.

A ce moment, il faut en général 6-8 jours, on aspire le liquide qui surnage, légèrement louche et sirupeux, et on le centrifuge pour l'obtenir tout à fait clair.

Ce liquide est toxique et sa toxicité n'est pas modifiée, comme celle des corps de vibrions étudiée par M. Pfeiffer, par l'ébullition ou par un chauffage prolongé à 60°. L'action de l'alcool n'a pas été étudiée.

La toxicité du liquide varie naturellement avec la quantité d'eau dans laquelle les microbes ont été mis en suspension.

Si l'on reprend, avec 15 c. c. d'eau, la totalité des microbes développés à la surface de la gélose d'une boîte Roux, 1 c. c. du liquide ainsi obtenu tue en moyenne un cobaye de 200-250 par injection péritonéale; il en faut à peu près le double pour tuer un cobaye de la même taille sous la peau et un lapin de 2 kilos par injection intraveineuse.

Nous n'avons malheureusement pas pu pousser bien loin l'étude de ce poison, car il est extrêmement difficile d'accoutumer les animaux à son action.

1. *Protective inoculation against asiatic Cholera*, Manille, 1904, p. 29-30.

Les cobayes traités avec beaucoup de ménagements peuvent arriver à supporter 2 fois ou 2 fois et 1/2 la dose mortelle; mais la plupart du temps ils se cachectisent et meurent dans le marasme.

Le sérum de ceux qui résistent est très agglutinant, mais absolument nul comme pouvoir antitoxique vis-à-vis de deux doses mortelles de la toxine des corps de microbe et de la toxine soluble.

Les cobayes vaccinés vis-à-vis de l'endotoxine peuvent cependant arriver à supporter 2 doses de toxine soluble, à condition d'attendre 12-15 jours, après la dernière injection vaccinale.

Chez les lapins la vaccination peut être poussée un peu plus loin. Nous avons eu des lapins qui supportaient, en injection intraveineuse, 6 c. c. d'un liquide qui tuait un lapin neuf à la dose de 1 c. c. 1/2. Et cependant le pouvoir antitoxique du sérum de ces lapins était pour ainsi dire inappréciable.

Les chèvres ont une sensibilité toute spéciale vis-à-vis de ce poison, surtout s'il est donné par injection intraveineuse.

Une première chèvre succombait dix minutes après avoir reçu dans la veine 1 c. c. d'un liquide dont la dose mortelle pour un lapin était égale à 2 c. c.

Une deuxième chèvre, après 3 mois de traitement (elle avait reçu, en 9 injections, des doses progressivement croissantes 11 c. c. 1/2 de liquide toxique), a été tuée en une demi-heure par 2 c. c. 1/2 dilué dans 7 c. c. 1/2 d'eau physiologique stérile. La dilution dans l'eau physiologique nous semblait indiquée à cause de la consistance légèrement sirupeuse du liquide.

Une troisième chèvre, après en avoir reçu en 4 mois 36 c. c. sous la peau, succomba très vite à la suite d'une injection intraveineuse de 2 c. c. de cette même toxine.

Nous ne nous expliquons pas la mort si rapide de ces chèvres; nous n'oserions certes pas la mettre exclusivement sur le compte de la toxine obtenue par macération des corps de vibrions.

Immunisation des chevaux. Sérum antitoxique.

C'est aux grands animaux et de préférence au cheval qu'il faut s'adresser pour préparer un sérum antitoxique.

Même vis-à-vis de la toxine soluble, il est en effet très difficile de vacciner les petits animaux, et, d'autre part, le pouvoir antitoxique de leur sérum est toujours très faible.

Lors de nos premières recherches et jusqu'à la publication de notre mémoire de 1896, nos chevaux avaient toujours reçu les injections vaccinales dans le tissu sous-cutané.

Sur un de ces chevaux, celui qui donnait le sérum le plus faible, nous essayâmes plus tard les injections intraveineuses, et nous constatâmes qu'en très peu de temps le pouvoir antitoxique de son sérum avait considérablement augmenté.

Il fallait 1 c. c. 1/2 du sérum de ce cheval, qui avait reçu sous la peau 1,230 c. c. de toxine en 11 mois, pour neutraliser 4 doses mortelles de toxine. Deux mois après, n'ayant reçu que 185 c. c. de toxine dans les veines, 1/3 c. c. du sérum de ce même cheval neutralisait 4 doses et 0 c. c. 08 deux doses mortelles de toxine.

Peu après ce cheval mourut d'une maladie intercurrente.

Depuis, nous avons vacciné deux génisses, les deux par des injections intraveineuses dès le début. Les bovidés supportent évidemment mieux que les chevaux la toxine cholérique et nous avons pu, en peu de temps, arriver à leur injecter des doses de toxine que nous n'avions jamais pu atteindre avec les chevaux.

En 8 mois de traitement une de nos génisses, qui avait reçu près de 1,400 c. c. de toxine, donnait un sérum dont 0 c. c. 015 neutralisait deux doses mortelles de toxine. Malgré ce résultat véritablement très engageant, nous avons renoncé à la vaccination des bovidés. Ces animaux ne se prêtent pas aussi bien que les chevaux aux petites opérations que nécessitent les injections et les saignées; de plus leur sang donne peu de sérum qui est d'autre part en lui-même toxique, et par conséquent peu convenable pour le traitement sérothérapique appliqué à l'homme.

Nous avons donc repris la vaccination des chevaux et depuis 19 mois, 9 chevaux ont été mis en traitement. Tous ont été traités dès le début par la voie intraveineuse : 4 sont morts en cours de vaccination, 2 de maladies intercurrentes, 1 de néphrite et le quatrième quelques heures après une injection vaccinale de 7 c. c. de toxine.

Des 5 qui nous restent, 4 reçoivent de la toxine soluble et le cinquième des vibrions vivants provenant des cultures sur

gélose de 18 heures, mis en suspension dans l'eau physiologique stérile.

Les 4 traités par la toxine en ont reçu, à l'heure actuelle, de un litre et demi à deux litres et demi.

Comme dose vaccinale maxima, nous n'avons jamais pu dépasser 65 c. c.; les troubles occasionnés par une telle dose ont toujours mis l'existence de l'animal en grave danger. Une dose de 50 c. c. est au contraire très bien supportée; la réaction vaccinale, caractérisée par une élévation de la température (2° ou 2° 1/2 en moyenne) atteint son maximum vers la 7e heure et, le lendemain, les animaux sont en général complètement rétablis.

Les injections vaccinales peuvent être répétées tous les 8 à 10 jours.

On saigne une première fois 12 jours et une deuxième fois 16 jours après la dernière injection.

Les sérums de la première et de la deuxième saignée sont, comme pouvoir antitoxique, parfaitement comparables.

Autrefois, il y a de cela près de dix ans, nous avions vacciné un cheval par des injections intrapéritonéales de vibrions vivants et virulents. En 16 mois, ce cheval avait reçu près de 600 cultures sur gélose de vibrions de la Prusse orientale. Son sérum agglutinant au 1/50,000 de c. c. et préventif à la dose de 1/20 de milligramme, était à peu près nul comme pouvoir antitoxique : il en fallait 1 c. c. 1/2 pour neutraliser 2 doses mortelles de toxine.

Dès 1896, à propos de la peste, M. Roux, le premier, avait constaté que le sérum des chevaux vaccinés par des injections intraveineuses de microbes vivants était manifestement antitoxique. Plus tard, MM. Vaillard et Dopter [1] firent la même constatation sur le sérum antidysentérique. Encouragés par ces résultats, nous avons appliqué ce même procédé en vue d'obtenir un sérum antitoxique pour le choléra.

Le cheval que nous avons actuellement en vaccination donna assez vite un sérum antitoxique relativement très actif. En 7 mois et lorsqu'il n'avait reçu que 27 cultures sur gélose dans les veines, il donnait un sérum dont 0 c. c. 05 neutralisait 2 doses mortelles de toxine; il était en même temps agglutinant

1. Vaillard et Dopter, *Annales de l'Institut, Pasteur* 1896, n° 5.

au 1/10.000 de c. c. et préventif vis-à-vis de la péritonite vibrionienne à la dose de 0 c. c. 0002. Depuis, le pouvoir antitoxique de son sérum n'a pas augmenté en proportion.

Lors de notre dernier essai et alors qu'il avait reçu 134 cultures sur gélose, la quantité de sérum nécessaire pour neutraliser 2 doses de toxine était égale à 0 c. c. 002 : il était par contre agglutinant au 1/23,000 et 0 c. c. 0001 prévenait la péritonite vibrionnienne.

Il faut dire aussi que les injections intraveineuses des vibrions vivants sont supportées par le cheval beaucoup moins bien que les injections intrapéritonéales. Ainsi, nous n'avons jamais pu donner plus de trois cultures à la fois dans les veines, tandis que dans le péritoine nous étions arrivé à donner 20 cultures à la fois.

Le cheval ainsi traité fut tué en 3 1/2 heures environ, par une injection intrapéritonéale de 21 cultures. — Chose remarquable : à l'autopsie pratiquée immédiatement après la mort, le liquide péritonéal, le sang du cœur et le suc des organes ensemencés sur gélose ne donnèrent pas une seule colonie de vibrions.

Dosage de l'activité du sérum anticholérique.

En aucune façon la méthode préconisée par M. Erlich pour le dosage du sérum antidiphtérique ne peut être appliquée à la détermination de l'activité du sérum anticholérique. La faiblesse de la toxine et de l'antitoxine, les bases toxiques qui se trouvent dans le liquide à côté de la toxine et qui peuvent à elles seules, lorsqu'on dépasse une certaine dose, tuer l'animal, s'opposent à l'application de cette méthode.

Autrefois, nous faisions nos dosages de la façon suivante : à une quantité donnée de sérum nous ajoutions des quantités progressivement croissantes de toxine, dont nous avions au préalable déterminé la dose minima mortelle, et nous injections le tout sous la peau des cobayes. D'après les résultats, nous disions 1 c. c. de sérum par ex. protège contre *n* doses mortelles. Nous dépassions rarement 4 doses mortelles. La méthode était évidemment très simple, mais les résultats loin d'être constants et satisfaisants.

En effet, en faisant agir sur des toxines d'activité différente

une quantité, toujours la même, d'un même sérum, nous finîmes bientôt par nous apercevoir que dans de telles conditions le pouvoir antitoxique du sérum se modifiait, pour ainsi dire, en raison directe de l'activité de la toxine et, dans certaines limites, en raison inverse de la quantité du liquide toxique employé.

Cette expression, que par commodité de description nous empruntons aux sciences exactes, ne doit, bien entendu, pas être prise à la lettre. Il nous arrivait par exemple de constater que 1 c. c. d'un sérum qui neutralisait 4 doses d'une toxine dont la dose mortelle pour un cobaye était égale à 1 c. c., pouvait en neutraliser 5 et 6 d'une toxine tuant au 2/3 de c. c. et pas plus de 2-3 d'une toxine ne tuant qu'à la dose de 2 c. c.

Nous avons constaté en outre que, pour une toxine de n'importe quelle activité, il fallait *en proportion* beaucoup plus de sérum pour neutraliser 4 doses mortelles que pour en neutraliser 2. Ceci bien entendu en prenant l'animal comme réactif. Un exemple, d'ailleurs, parlera mieux à l'esprit.

Prenons un sérum dont 0.5 c.c. neutralisent et rendent inoffensives pour le cobaye deux doses mortelles de toxine : mélangeons 1 c. c. de ce sérum à 40 doses de toxine : le cobaye supportera 2 c. c. de ce mélange, mais 3 et à plus forte raison 4 c. c. le feront périr. Pour 3, pour 4 doses, 0 c. c. 075 et 0 c. c. 10 de sérum ne suffisaient pas ; il en fallait 0 c. c. 20, et 0 c. c. 35 : ce sont là des chiffres que nous empruntons à notre cahier d'expériences.

Pour avoir des résultats constants et toujours autant que possible comparables, voici la méthode que nous avons définitivement adoptée pour le dosage du sérum anticholérique.

Nous faisons toujours nos essais avec une toxine filtrée au 7e jour et dont 1 c. c. en injection sous-cutanée, représente la dose minima mortelle en 12-18 heures, pour des cobayes de 250 grammes. Nous avons donné la préférence à une toxine tuant au centimètre cube, car c'est la toxine de force moyenne la plus facile à obtenir.

A deux doses mortelles de toxine, soit 2 c. c., nous ajoutons des quantités variables et progressivement décroissantes de sérum. Après 10 minutes de contact *in vitro* les différents mélanges sont injectés sous la peau des cobayes. Pour chaque série

4 cobayes servent de témoins : 2 reçoivent sous la peau une dose minima mortelle et les deux autres le double.

Par conséquent, quand nous disons, par exemple, que tel sérum tient à 0 c. c. 15, cela veut dire que 0 c. c. 15 neutralisent, après 10 minutes de contact *in vitro*, deux doses mortelles d'une toxine dont la dose minima mortelle en injection sous-cutanée pour un cobaye de 250 grammes est égale à 1 c. c.

Lors de nos derniers essais, nos meilleurs sérums tenaient à 1 c. c. 015; les plus faibles à 0 c. c. 35.

Sur la nature de la toxine cholérique.

Nos connaissances sur le déterminisme de la production de la toxine cholérique, telle que nous l'obtenons dans nos milieux de culture, sont tout à fait incomplètes et nous connaissons d'autre part très peu de chose sur la nature même de ce poison.

S'agit-il, comme le pense M. Ramson[1], d'un poison soluble et diffusible secrété par le microbe de son vivant; ou bien, suivant la conception de M. Pfeiffer[2], d'un produit toxique résultant d'une modification de la vraie toxine cholérique renfermée dans les corps de vibrions?

MM. Brau et Denier[3] déclarent tout simplement que *la production de la toxine cholérique semble liée à la macération des vibrions*, et, contrairement à l'opinion de M. Pfeiffer, ils pensent qu'*il n'y a pas lieu d'établir de distinction entre la toxine cholérique contenue dans les corps de microbes et celle obtenue dans les liquides de culture*.

Pour M. Kraus enfin, du moment que la toxine soluble donne une antitoxine, elle doit être considérée comme une vraie toxine.

La question est évidemment très complexe et pleine de difficultés.

Dans plusieurs séries de recherches, nous avons étudié les variations de la toxicité des produits d'âge différent; l'action de la chaleur et du vieillissement à l'air et à la lumière sur ces mêmes produits; leur neutralisation par le sérum dans ces différentes conditions. Ces recherches nous ont permis de cons-

1. *Loc. cit.*
2. *Loc. cit.*
3. *Loc. cit.*
4. *Loc. cit.*

tater un certain nombre de faits dont la connaissance, croyons-nous, pourra être utile à tous ceux qui s'intéressent à l'étude du choléra.

Les voici brièvement résumés. Inutile de dire encore une fois que les chiffres que nous donnons, sont empruntés à notre cahier d'expériences.

Un flacon gradué renfermant 500 c. c. du milieu gélatine-peptone sérum de cheval, chauffé 3 heures à 60°, est largement ensemencé avec la totalité de vibrions provenant de deux cultures sur gélose en boîtes Roux âgées de 18 heures. Le liquide est réparti aussitôt après dans 10 boîtes stériles à raison de 50 c. c. par boîte et placé à l'étuve à 38°.

Au bout de 3 jours, on filtre 3 boîtes, sur papier d'abord, sur un filtre Berkfeld ensuite.

Le filtrat est déjà suffisament toxique : 2 c. c, en injection, sous-cutanée tuent un cobaye de 250 grammes en 12 à 14 heures environ.

Chauffé pendant 5 minutes à la température de l'ébullition, dans des tubes aussi remplis que possible et fermés à la lampe, ce liquide garde toute son activité.

Un chauffage à 60° pendant 24 heures, un séjour de 15 jours environ à la température de la chambre à l'air et à la lumière, ou bien de 8 à 10 jours à l'étuve à 38° le rendent au contraire complètement inactif. Nous avons pu en injecter jusqu'à 6 c. c. sous la peau ou dans le péritoine de cobayes (210 à 240 grammes) sans que ces animaux aient présenté des troubles toxiques appréciables.

Un sérum, dont l'activité dosée vis-à-vis d'une toxine de 7 jours était égal à 0 c. c. 025, a neutralisé dans les mêmes proportions la toxine de 3 jours avant et après le chauffage à 100°.

3 des 7 boîtes qui restent sont filtrées après 7 jours d'étuve à 38°.

La toxicité du filtrat a plus que doublé ; 2/3 de c. c. tuent le cobaye en 12 à 18 heures.

Le chauffage à 100° pendant 5 minutes n'atténue pas la toxine de 7 jours. Sa toxicité est au contraire considérablement diminuée (et à peu près dans les mêmes proportions) par un chauffage à 60° pendant 24 heures, par la température de

l'étuve à 38° en 10 à 12 jours et par le vieillissement à la température ordinaire, à l'air et à la lumière en 18 à 25 jours.

Il faudra non plus 2/3 de c. c., mais 1 1/2 et 2 c. c. pour tuer des cobayes de même poids.

La quantité de sérum antitoxique capable de neutraliser 2 doses mortelles de toxine au 7e jour avant et après le chauffage à 100° ne varie pas; elle est toujours égale à 0 c. c. 025.

Il faudra au contraire de de 0 c. c. 30 à 0 c. c. 50 de ce même sérum pour neutraliser 2 doses de toxine chauffée à 60° pendant 24 heures, restée 8 jours à l'étuve à 38° ou 25 à la température ordinaire à l'air et à la lumière.

Les 4 dernières boîtes de la série sont enfin filtrées après 15 jours d'étuve.

La dose mortelle du filtrat pour un cobaye de 210 à 240 grammes varie entre 2 et 2 1/2 c. c..

Le pouvoir toxique du liquide au 15e jour a donc beaucoup baissé, surtout en comparaison avec la toxine de 7 jours.

Il est, d'autre part, à peu près comparable à celui de la toxine de 7 jours chauffée 24 heures à 60°, vieillie à la température de l'étuve ou à celle de la chambre à l'air et à la lumière.

La température de l'ébullition, le chauffage à 60° pendant 24 heures et le vieillissement (41 jours) ne déterminent pas un affaiblissement appréciable sur la toxine de 15 jours. Pour neutraliser 2 doses mortelles de cette toxine non chauffée, chauffée ou vieillie, il faut toujours employer des quantités relativement fortes de sérum : 0 c. c. 50 en moyenne.

La toxine obtenue par macération des corps de microbes dans l'eau salée et légèrement alcaline, se comporte comme résistance aux agents physiques et vis-à-vis de la neutralisation par le sérum, comme la toxine de 15 jours et celle de 7 chauffée à 60° pendant 24 heures ou vieillie à l'air et à la lumière.

De l'ensemble de ces expériences résulte donc : que *les caractères, les propriétés biologiques*, en un mot *la nature de la toxine cholérique telle que nous l'obtenons sur les milieux artificiels change considérablement suivant l'âge des cultures*.

La toxicité du liquide au 3e jour semble due à un poison relativement fragile et neutralisable par des petites quantités de sérum. Ce même poison se retrouve en plus grande quantité et avec le même caractère dans la toxine de 7 jours; seulement,

dans celle-ci nous trouvons en outre un deuxième poison, moins actif que le premier, mais résistant, au chauffage prolongé à 60°, au vieillissement, et demandant, pour être neutralisé, des quantités relativement beaucoup plus fortes de sérum.

Ce dernier poison existe seul dans la toxine de 15 jours et dans celle obtenue par la macération des corps de microbes.

D'après leurs propriétés, le premier de ces poisons répond mieux aux caractères des vraies toxines; le deuxième trouve au contraire sa place toute indiquée parmi les endotoxines : nous devons peut-être à sa présence de ne pas pouvoir augmenter au delà d'une certaine limite la dose des injections vaccinales.

Quant à leur nature, avons-nous à faire à deux poisons différents ou à un seul et même poison dont les propriétés biologiques varieraient suivant l'état physique dans lequel ce poison peut se trouver dans les cultures d'âges différents ?

Y a-t-il un produit de secrétion, le premier et le plus fragile, à côté du produit sûrement dû à la destruction des corps de microbes?

Toute conclusion à ce sujet nous paraît, à l'heure actuelle, prématurée et d'ailleurs, au point de vue pratique, peu importante. A ce point de vue il y aurait une question bien plus importante à résoudre : ce serait de savoir si la toxine que nous obtenons sur nos milieux de culture est la même que celle donnée par le vibrion dans l'intestin de l'homme atteint de choléra et qui détermine les symptômes toxiques toujours graves, parfois foudroyants, qui caractérisent cette maladie.

L'application à l'homme du sérum anticholérique pourra peut-être fournir des renseignements précieux à ce sujet; à moins que, comme cela arrive pour le tétanos, l'intervention sérothérapique soit inefficace à combattre l'intoxication déjà faite dès le début des premiers symptômes de la maladie et peut-être même avant.

Il serait donc de tout intérêt d'essayer de combattre le choléra humain avec les sérums antitoxiques préparés soit avec les produits solubles, soit avec les injections intraveineuses de vibrions vivants. Jusque-là, nous n'avons qu'à attendre.

Recherches sur la Flore intestinale normale des enfants âgés d'un an à cinq ans.

PAR HENRY TISSIER

(Avec les pl. I et II.)

Après avoir étudié les microbes composant la flore intestinale du nourrisson, nous devons maintenant chercher à connaître ceux qui vont pénétrer dans le tube digestif et s'y acclimater, chez l'enfant passant de l'alimentation lactée exclusive à une alimentation plus variée, analogue à celle de l'homme adulte. C'est ordinairement entre un an et 18 mois que commence cette période, dite de sevrage, et c'est ordinairement vers 3 ou 4 ans qu'elle est complètement terminée.

Ces recherches sont plus délicates à conduire chez ces enfants que chez le nourrisson. Il existe, en effet, de nombreuses façons de sevrer les enfants. Dans les campagnes, par exemple, les mères ont l'habitude d'ajouter d'abord aux tétées une petite quantité des aliments communs à toute la famille, la plupart du temps de la soupe grasse, au pain et aux légumes. Puis progressivement, l'enfant ne prend plus le sein ; on ne le nourrit plus qu'avec des soupes auxquelles on ajoute, parfois, un peu de lait de vache. Vers 3 ans, il mange comme les adultes, presque exclusivement du pain, des légumes, des graisses. A côté de ce mode de sevrage certainement très ancien, nous devons placer celui qui se pratique dans les villes [1]. On commence à donner, dès l'éruption des premières dents,

1. Instructions aux mères pour allaiter leurs enfants, élaborées au nom de la commission des crèches de la ville de Paris par le docteur G. Variot, médecin de l'hôpital des Enfants Malades.

des bouillies farineuses claires, semoule, tapioca, farine, puis, un œuf bien frais, à la coque ou délayé dans les potages. A 18 mois, on ajoute du jus de viande de bœuf, du poisson de mer, de la viande blanche hachée, de la purée de pomme de terre au lait, des lentilles, des crèmes, des gâteaux de riz, composant les deux principaux repas et un litre de lait stérilisé en 3 ou 4 fois dans la journée. Vers 3 ou 4 ans, l'enfant prendra, comme ses parents, une alimentation très riche en matière albuminoïdes, œufs, viandes, poissons, fromages, légumes et pain. En dehors de ces deux modes de sevrage si différents, il en existe d'autres qui tiennent à la fois de l'un et de l'autre. On donne aux enfants du lait de vache, des bouillies au lait, mais aussi des soupes aux légumes, des purées de légumes farineux ou verts, des compotes de fruits, des confitures et de temps à autre un œuf dans des entremets. On ne donne de la viande que beaucoup plus tard vers 4 ou 5 ans. Il est évident que toutes ces alimentations différentes influeront sur la composition de la flore microbienne et que nous devrons suivre sa transformation dans tous ces cas. Pour simplifier notre description nous admettons trois façons d'alimenter les jeunes enfants : un mode d'alimentation surtout végétarienne, un autre où il est surtout donné des matières albuminoïdes animales, et un autre où l'on donne des végétaux accompagnés d'une très petite quantité de lait et d'œuf.

Nous ne devons pas oublier que notre but est de chercher à établir un type de flore normale, comme nous l'avons fait pour le nourrisson ; il ne nous faudra donc comprendre, dans notre description que des microbes intestinaux absolument normaux. Or tout médecin sait, par expérience, combien sont fréquents les troubles digestifs au moment du sevrage et tout bactériologiste sait que les espèces pathogènes subsistent dans l'intestin du malade, longtemps après la cessation des accidents. C'est ainsi que nous avons isolé un microbe pathogène des selles d'un enfant en apparence guéri, pendant les six mois qui ont suivi la disparition des troubles digestifs. Pour éviter cette cause d'erreur qui consisterait à considérer comme normale une espèce anormale, nous n'avons pris, pour nos recherches, que des enfants surveillés depuis leur naissance, en mettant soigneusement de côté tous ceux qui avaient pré-

senté, à un moment quelconque de leur existence, le moindre trouble digestif.

Nous nous sommes servis, pour nos isolements, de la méthode de Veillon et nous avons eu soin d'étudier, autant qu'il nous a été possible, les propriétés biologiques et chimiques de toutes les espèces isolées, Nous n'avons certes pas obtenu toutes les bactéries formant la flore intestinale de ces jeunes enfants; mais nous pensons avoir isolé les principales. Il nous a paru intéressant de chercher à établir le nombre relatif de chacun de ces microbes. Il est, en effet, plus important de connaître les espèces les plus nombreuses, donnant les fermentations dominantes, que certaines espèces rares dont l'action chimique ne peut être considérable, étant donné leur petit nombre. Nous nous sommes servis toujours du même milieu; nous avons ensemencé un même nombre de tubes avec une quantité de matière fécale approximativement égale; nous avons examiné toutes les colonies poussant dans les cinq derniers tubes et nous avons établi le pourcentage de chacune d'elles. Les nombres que nous donne cette méthode sont évidemment approximatifs et ne se rapportent qu'à des bactéries poussant également dans nos milieux de culture. Ce ne sont que des moyennes portant sur 30 cas. Ils ne serviront qu'à nous donner des idées générales sur la composition de la flore.

GROUPEMENT DES BACTÉRIES DANS LES SELLES NORMALES. — Nous prendrons comme type de notre description un enfant bien portant nourri jusqu'à un an au lait maternel, puis sevré progressivement avec du lait de vache coupé, des soupes au pain et aux légumes et ne prenant, par la suite, qu'une alimentation mixte. On lui aura donné par exemple à 18 mois : le matin, une soupe au lait coupé de moitié, à midi, une soupe aux légumes, du pain et des confitures, à 4 heures, un biberon de lait coupé de moitié, le soir, une soupe aux légumes; à deux ans, on aura ajouté, aux deux repas, une pâte ou une purée de féculents; à 3 ans, des légumes verts, des entremets, des fruits; à 4 ans, on aura donné, au repas de midi et tous les deux jours, une petite quantité de viande avec sauces ou un peu de poisson.

On sait que, tant que l'enfant n'aura d'autre nourriture que

le sein, sa flore intestinale gardera le même aspect typique ; elle ne semblera formée que d'une seule espèce : le *B. bifidus*. Un examen bactériologique complet montrera, à côté de cet anaérobie strict, des anaérobies facultatifs : *B. Coli* (v. commune) et *entérocoque;* 85 à 90 0/0 environ des colonies seront formées par le *B. bifidus*, 6 à 8 par le *B. coli*, 4 à 7 par l'*Entérocoque*. Dès que la mère ajoutera, à l'alimentation, du lait de vache coupé d'eau, on verra apparaître, dans les selles, quelque rares bacilles rigides, longs et épais, à bout carré *B. acidophilus*, et d'autres plus grêles *B. III de Rodella ;* mais l'aspect microscopique de la selle restera sensiblement le même. Vers 14 ou 18 mois, quand on aura donné des potages, il se produira une modification plus nette. Le *B. bifidus* ne paraîtra plus aussi nombreux et de forme aussi régulière. A côté des formes habituelles, en diplobacilles, on trouvera de ces formes géantes, rencontrées dans les milieux peu favorables, ou naines rencontrées dans les colonies mixtes ; les unes et les autres pouvant se renfler par endroit ou se bifurquer. En outre, les coccobacilles et les diplocoques seront en quantité plus grande.

A côté de ces espèces et des quelques bâtonnets moyens ou grêles signalés plus haut, on peut voir de très petits cocci, décolorés par la méthode de Gram, formant des amas dans les préparations. En même temps ou quelquefois plus tard apparaissent de gros bacilles, larges et trapus, en très petite quantité, un ou deux par champ microscopique, munis parfois de spores à une de leurs extrémités et gardant la coloration par la méthode de Gram. Les isolements nous montrent que la première espèce est le *staphylococcus parvulus* (Veillon et Züber), la seconde le *B. perfringens*, toutes deux anaérobies stricts. Vers deux ans, quand l'alimentation est plus variée, la flore bactérienne présente un aspect plus complexe. Aux espèces citées plus haut viennent s'ajouter quelques gros diplocoques, de forme bien arrondie, décolorés par la méthode de Gram, également anaérobies stricts : le *diplococcus orbiculus* (espèce nouvelle), puis un bacille de grandeur moyenne, prenant mal les colorants basiques, décoloré par la méthode de Gram, anaérobie strict, donnant dans les cultures de curieuses formes d'involution : le *B. funduliformis* (J. Hallé) et enfin des *levures*[1].

1. Levures produisant avec le glucose de l'alcool éthylique, sans action sur le lactose. Elles n'ont pas été identifiées.

Vers trois ans, quand l'enfant commence à prendre plus de matières albuminoïdes, apparaissent dans les selles des coccobacilles à extrémités très effilées, en forme de navette, isolés ou groupés par paire, décolorés également par la méthode de Gram, anaérobies stricts, animés dans les milieux liquides de mouvements onduleux : le *coccobacillus præacutus* (espèce nouvelle); puis un autre coccobacille rappelant les caractères morphologiques de l'entérocoque, mais moins polymorphe, anaérobie strict, le *coccobacillus oviformis* (espèce nouvelle). Plus tard, enfin, vers 4 à 5 ans, aux espèces précédentes s'ajouteront d'autres bactéries également anaérobies stricts; un bacille grêle, immobile, se renflant parfois en son milieu ou formant encore de très longues chaînes à articles courts, gardant la coloration de Gram : le *streptobacillus ventriosus* (espèce nouvelle) et un autre bacille beaucoup plus gros, de la taille du *B. perfringens*, mais incurvé, donnant dans les cultures de longues formes filamenteuses et se décolorant par la méthode de Gram : le *B. capillosus* (espèce nouvelle).

Ainsi, chez un enfant de 5 ans, ayant une alimentation mixte, nos méthodes d'isolement peuvent nous donner jusqu'à 14 espèces différentes, 10 anaérobies stricts et 4 facultatifs, sans compter les levures. A première vue, cette flore intestinale peut paraître bien complexe; mais si nous faisons le pourcentage des colonies, nous voyons que 80 0/0 environ sont encore formées par les microbes du nourrisson et 20 0/0 seulement font partie de la nouvelle flore. Le *B. bifidus* est toujours l'espèce dominante puisqu'il forme encore 70 0/0 des colonies totales.

Il existe donc, chez l'enfant de 4 à 5 ans, une FLORE INTESTINALE FONDAMENTALE, analogue à celle du nourrisson (*B. bifidus*, *B. coli* (*v. commune*[1]), *entérocoque*; accessoirement, le *B. acidophilus*, *B. exilis*, *B. III de Rodella*) qui est la plus importante, dont l'action sera certainement prépondérante, et une FLORE INTESTINALE SURAJOUTÉE (*staphylococcus parvulus*, *diplococcus orbiculus*, *B. perfringens*, *B. funduliformis*, *coccobacillus præacutus*, *coccobacillus oviformis*, *B. ventriosus*, *B. capillosus*).

1. Le *B. coli* (v. communior) est rare. Nous ne l'avons isolé que 5 fois sur 32 cas.

Le rapport de la première à la seconde est environ de $\frac{80}{20}$.

Si nous cherchons, maintenant, à voir comment ces microbes vont se répartir dans les différentes parties du tube digestif, nous voyons que, comme chez le nourrisson, les bactéries sont peu nombreuses dans l'estomac, très rares, dans le duodenum, augmentent progressivement dans l'iléon, le cæcum et le rectum. Les anaérobies facultatifs prédominent dans les parties de l'intestin contenant encore des traces d'oxygène; les anaérobies stricts dans les parties qui en sont dépourvues. Parmi ces derniers, ceux qui domineront dans les dernières portions du tube digestif seront les ferments les plus forts : le *B. bifidus*. Dans le cæcum, par exemple, la flore anaérobie est plus variée; on y peut plus facilement isoler les anaérobies surajoutés. Dans le rectum elle est plus simple, elle semble surtout formée par le *B. bifidus*. La répartition des microbes dans l'intestin se fait donc suivant les mêmes lois[1], chez l'enfant de 1 à 5 ans et chez le nourrisson.

Selles des enfants ayant une alimentation végétarienne. — Chez les enfants qui ont été sevrés avec des potages ordinaires, contenant parfois une petite quantité de lait coupé de moitié d'eau, puis alimentés par la suite avec des soupes, des légumes en purée, du pain, des matières grasses, des fruits, la flore intestinale présente un aspect plus simple encore que celle de l'enfant à l'alimentation mixte. On voit apparaître également, à mesure que la nourriture devient plus variée, des espèces nouvelles : *staphylococcus parvulus*, *B. perfringens*, *B. fundiliformis diplococcus orbiculus* mais rarement les autres. L'aspect microscopique des selles rappelle, plus que les précédentes, l'aspect typique des selles du nourrisson. Elles contiennent, par contre, plus de *levures* et plus de grosses formes bacillaires décolorées ou colorées par la méthode de Gram. Mais si nous cherchons à établir un rapport entre la *flore fondamentale* et la *flore surajoutée*, nous voyons qu'il est encore plus élevé que chez l'enfant à l'alimentation mixte puisqu'il peut atteindre $\frac{90}{10}$. Les colonies de *B. bifidus* forment 80 0/0 des colonies totales.

1. Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson. H. Tissier. Fév. 1905. *Annales de l'Inst. Pasteur.*

Selles des enfants ayant une alimentation riche en matières albuminoïdes. — Nous comprendrons, sous cette rubrique, les enfants sevrés avec du lait de vache pur auxquels on donne, à un an, un ou deux œufs par jour; à 18 mois, du poisson ou de la viande avec des purées de légumes au lait, des pâtes et des biscuits. Ce mode de sevrage donne souvent des mécomptes et il est rare de voir des enfants, ainsi alimentés, atteindre l'âge de cinq ans sans avoir eu de troubles digestifs quelconques. Les modifications dans l'aspect des selles indiquées plus haut, sont ici plus profondes. Les anaérobies facultatifs se multiplient rapidement, alors que le *B. bifidus* diminue d'une façon notable. Les bactéries surajoutées pénètrent rapidement dans l'intestin et s'y multiplient nettement. On trouve toutes les espèces signalées plus haut et beaucoup plus nombreuses. Parmi elles se trouvent surtout : le *coccobacillus præacutus*, le *coccobacillus oviformis*, le *B. ventriosus*. Autre fait sur lequel nous devons insister; quand on donne ces matières albuminoïdes en quantité trop grande, il n'est pas rare de trouver des espèces de passage, anaérobies protéolytiques, tels que *B. bifermentans*. Ces bactéries ne se sont pas acclimatées dans l'intestin des enfants où elles avaient été rencontrées. A l'examen direct, la flore intestinale semble surtout formée de bacilles fins et grêles, de coccobacilles effilés dont la plupart ne gardent pas la coloration de Gram. On voit rarement des *levures*. Les gros bacilles décolorés par le Gram sont également moins nombreux. Le rapport de la flore fondamentale à la flore surajoutée est plus petit que chez les autres enfants. Il est environ de $\frac{70}{30}$. 50 0/0 des colonies, seulement, sont formées de *B. bifidus*.

Nous ne nous sommes occupés, jusqu'ici, que d'enfants primitivement élevés au sein, possédant une flore, antérieure au sevrage, très riche en *B. bifidus* et par conséquent très simple. Mais chez le nourrisson au biberon, aucune espèce n'est prédominante; le *B. bifidus* ne forme que 30 0/0, à peine, des colonies totales. Comment se comportera cette flore, moins résistante, avec l'alimentation nouvelle? Dès que nous aurons commencé le sevrage, nous verrons, comme chez les autres enfants, apparaître dans les selles les bactéries nouvelles, mais en plus grand nombre. Il semble que leur développement y est

plus facile. L'ancienne flore ou *flore fondamentale*, d'aspect si complexe, avec ces multiples espèces (*B. acidophilus*, *B. exilis*, *B. III de Rodella*, *B. lactis aerogenes*, *B. bifidus*, *enterocoque*, *B. coli*, etc.) gardera, longtemps encore, son caractère. Au bout d'un certain temps, vers 3 ou 4 ans, surtout si l'on donne une nourriture végétarienne, sans lait pur, ces différences s'atténueront et tendront à disparaître.

Ainsi, nous voyons l'aspect bactérien des selles varier avec l'alimentation antérieure, l'alimentation habituelle et même, dans une certaine mesure, avec l'alimentation journalière. Chaque individu paraîtra posséder une flore personnelle. Nous avons vu, aussi, des enfants d'une même famille posséder dans leurs selles des particularités communes, particularités facilement explicables, étant données la vie en commun et la nourriture identique. Ces flores individuelles ou familiales ont été très bien indiquées, dès 1894, par M. Metchnikof. Mais si nous serrons de près la question, nous voyons que ces différences portent, assez peu sur le fond même de la flore, sur les microbes essentiels, sur ce que nous avons appelé la *flore fondamentale*. Cette dernière est plus ou moins importante, mais elle existe toujours. Toutes ces différences sont surtout dues aux espèces surajoutées et aux espèces de passage qui, elles, sont très variables. C'est elles seules qui donnent ces aspects particuliers qui frappent tant, au simple examen microscopique.

ROLE PHYSIOLOGIQUE DE LA FLORE INTESTINALE NORMALE. — Nous avons vu que, chez le *nourrisson*, les microbes intestinaux ne paraissent pas servir à la nutrition générale. Chez l'enfant au sein, ils sont complètement inoffensifs ; un seul produit de l'indol, le *B. coli*, il est en si petit nombre dans les selles que son effet nuisible ne peut être considérable. On ne trouve, du reste, pas de sulfoconjugués dans les urines. Ce fait, indiqué par la plupart des auteurs, nous a été de nouveau confirmé par P. Garnier qui, chez des enfants à flore intestinale normale, a trouvé pour 0gr. 155 de sulfates totaux (exprimés en $SO^4 H^2$ et p. 1000 d'urine), aucune trace de sulfoconjugués. Chez un enfant à l'allaitement mixte ayant une flore très voisine de la normale mais pas absolument identique, ce

même auteur a trouvé pour 0gr,455 de sulfates totaux : 0gr,0014 de sulfoconjugués. Chez l'enfant au biberon, les microbes intestinaux sont moins inoffensifs. Max Soldin [1] a trouvé, dans leurs urines, 4 fois plus de sulfoconjugués que chez le nourrisson au sein (0gr,012 au lieu de 0gr,004). Mais si ces bacteries normales sont inutiles et inoffensives, elles possèdent une propriété intéressante; elles servent de moyen de protection contre l'infection. Elles sont, comme nous l'avons dit, surtout chez l'enfant au sein, en harmonie parfaite avec le développement de l'organisme.

Chez l'enfant plus âgé ayant une alimentation mixte, les bactéries de l'intestin auront-elles des propriétés analogues? Joueront-elles un rôle utile dans la digestion?

On sait que d'un repas d'épreuve [2] (viande = 60 gr., pain = 100 gr., légumes farineux = 100 gr., lait = 500 gr., beurre = 30 gr.) l'analyse ne montre dans les matières fécales que des déchets insignifiants : 4 à 5 0/0 des graisses. Tout, matières albuminoïdes, hydrocarbonées, sauf cette petite quantité de graisse, a été transformé et assimilé. Les microbes, que nous avons isolés, peuvent-ils, *in vitro*, produire des actions analogues? Un seul, le *B. perfringens*. attaque les matières albuminoïdes naturelles; les autres n'ont d'action que sur les matières peptonisées. Par contre, ils agissent tous, ou presque tous, sur les hydrocarbonées : le *B. perfringens* attaque l'amidon, le glucose, le lactose, le saccharose; le *B. bifidus*, l'*enterecoque*, le *B. coli* (v. communior), le *B. acidophilus*, le *B. exilis*, le *B. III de Rodella*, le *B. funduliformis*, attaquent le glucose, le lactose et le saccharose; le *B. coli* (v. commune) le *Diplococcus orbiculus* attaquent le glucose et le lactose; le *Staphylococcus parvulus* le glucose et le saccharose; le *B. prœacutus* le *coccobacillus oviformis*, le *B. ventriosus* seulement le glucose. Ils donnent des acides lactique, acétique, butyrique, propionique, valérianique, etc. Le *B. bifidus* donne une acidité d'arrêt élevé = 4.90 (en SO^4H^2 p. 1000) ; le *B. acidophilus* et le *B. perfringens* = 3.43; l'*enterocoque* et le *B. exilis* = 2.45; le *B. coli*, le *staphyl. parvulus* = 1.96; le *B. III de Rodella*, le *B. funduliformis*, le *B. præcutus*, le *diplococcus orbiculus* = 1.47; le *coccob. oviformis*, le *B. ventriosus*

1. Max Soldin, *Jahrbuch für Kinderheilk.* Mars 1907.
2. Gauthier René, *Thèse de Paris* 1905.

= 0.98; le *B. capillosus* = 0.49. La plupart enfin semblent agir sur les matières grasses neutres, les saponifient et les transforment en savons alcalins. Ces microbes pouraient donc aider, dans une certaine mesure, les sucs digestifs, s'ils étaient placés comme dans nos milieux de culture, dans des conditions de vie favorables. Ces conditions sont-elles réalisées dans le tube digestif? Dans l'estomac d'un jeune chien, sacrifié 3 heures après le repas, (soupe au pain et pomme de terre = 200 gr., viande = 30 gr., graisse = 30 gr., glucose = 20 gr.) nous avons encore trouvé des matières albuminoïdes naturelles, des protéoses, des graisses, des matières amylacées, mais aucune trace de glucose. Le milieu était acide, par contre peu favorable au développement microbien. Nous n'avons, du reste, obtenu dans nos cultures que quelques rares colonies de *B. coli* et d'*enterocoque*. Dans la première moitié de l'intestin grêle, la réaction du milieu était neutre; il contenait encore des traces de matières albuminoïdes, des protéoses, des graisses, des matières amylacées et du glucose. Ernst [1] n'a pas trouvé, chez le chien, de peptone, mais une grande quantité de tyrosine. Nencki et Sieber [2] ont signalé chez l'homme des peptones, des albumoses, du glucose, de l'alcool, des acides lactique et acétique en petite quantité. C'est donc un excellent milieu de culture, et pourtant, les examens bactériologiques indiquent la présence de peu de bactéries : *B. coli*, *enterocoque*, *B. bifidus*, *B. perfringens*. Ceci tient à la présence de sécrétions empêchantes : bile, sécrétions pancréatiques et intestinales. Il s'est produit un travail microbien, puisqu'on trouve des traces d'indol et quelques acides de fermentation; mais il est de bien peu d'importance. Dans l'iléon, le milieu chimique devient beaucoup plus pauvre, du fait de la résorption intestinale. Il n'y a plus que des traces de peptones, la tyrosine diminue (Ernst). On trouve encore des graisses, des matières amylacées et des traces de glucose. Le développement microbien est plus facile; ce sont encore les bactéries anaérobies facultatives qui dominent. Il y a plus d'acides gras, plus d'indol. Ernst a signalé du scatol et des traces de phénol. Dans le cœcum, là où le microscope nous montre une prolifération microbienne intense, le milieu chi-

1. Ernst, *Zeitsch f. phys. Ch.* XVI, page 216.
2. Nencki et Sieber, *Arch. f. expér. path.* XXVIII.

mique ne contient plus de protéose, ni même de tyrosine (Ernst), ni de glucose, mais une petite quantité de matières amylacées et de graisses. Dans le reste du gros intestin, les bactéries ne trouveront plus, comme aliments azotés, que des déchets insignifiants, elles auront encore à leur disposition quelques matières hydrocarbonées. C'est ce qui permettra aux anaérobies, ferments acides forts, de se développer et de devenir prédominants. Ainsi, l'organisme ne semble permettre à la flore microbienne de prendre son entier développement que quand la plus grande partie du travail utile est terminé et encore, en asséchant le milieu dans le gros intestin, s'oppose-t-il à sa multiplication excessive. De tous les produits de fermentation, seuls les acides seraient peut-être utilisables. Ils sont en trop petites quantités pour que leur rôle nutritif soit important. Nous ne pouvons que répéter ce que nous avons dit pour le nourrisson ; *les fermentations microbiennes normales ne paraissent pas, jusqu'à présent, servir à la nutrition de l'organisme* [1].

Mais, à côté de ces acides, il existe d'autres produits de fermentation, indol [2], scatol, phénols, AzH^3, etc., dont la résorption ne peut être que nuisible. Sont-ils en quantité assez grande pour produire une action réellement toxique? Deux espèces seulement, parmi toutes celles que nous avons isolées, produisent de l'indol en culture : le *B. Coli* et le *B. Perfringens.* Dans la première partie de l'intestin grêle, elles en produisent peu, comme nous venons de le voir, d'abord à cause du petit nombre de microbes actifs, en second lieu à cause de la présence du glucose [3]. Dans les autres portions du tube digestif elles pourront en donner de plus grande quantité. Quant au scatol, aux phénols ou corps similaires, nous connaissons mal les bactéries qui les produisent. Les analyses d'urine montrent que la quantité des phénols éliminés n'est pas considérable. Pour $1^{gr},816$ d'acide sulfurique des sulfates totaux, on trouve $0^{gr},042$ de SO^4H^2 des sulfoconjugués, pour 1,000 d'urine. Le

1. Nous ne sommes pas parvenus à isoler, avec nos moyens habituels de culture, des bactéries digérant la cellulose.

2. Les expériences de Porchet et Hervieux prouvent que cette substance n'est pas toxique. Ce fait diminue la valeur semeïologique des sulfoconjugués urinaires.

3. Pour qu'il y ait production d'indol en présence de glucose, il faut que la quantité de ce sucre soit inférieure à 10 p. 1000 v. Tissier et Martelly. *Annales de l'Inst. Pasteur.* Déc. 1902. p. 880.

rapport de l'acide de ces sulfo-éthers à 100 gr. d'acide des sulfates totaux, qui est en moyenne chez le nourrisson de 0,25, atteint chez l'enfant de 5 ans à l'alimentation mixte 2 à 4. On peut dire que chez eux la *Flore intestinale est moins inoffensive que chez le nourrisson*. Si nous comparons ces fermentations intestinales à celles qui se produisent dans une viande en putréfaction, on voit qu'il n'existe, entre les deux, aucun point commun. On ne trouve pas, dans l'intestin, ces ferments simples, puissants, qui détruisent rapidement la molécule albuminoïde; on ne trouve que des ferments mixtes et encore des ferments peptolytiques (hormis le *B. perfringens*). Il n'y a donc pas, à proprement parler, chez ces enfants, de *putréfaction intestinale*. C'est à peine s'il s'en produit une ébauche, décelable par l'indol, le scatol ou les phénols. Ce n'est pas à la flore fondamentale, l'ancienne flore du nourrison, qu'il faut l'attribuer, mais à la *flore surajoutée* qui possède des espèces comme le *B. perfringens*. Il est encore un autre point sur lequel nous devrons attirer l'attention : cette dernière flore contient des espèces pathogènes (*B. perfringens, B. funduliformis, Staphyl. parvulus*) capables de pénétrer dans la circulation générale, à la faveur d'un trouble de nutrition, pour former ou aider à former des processus gangreneux (Veillon et Züber).

Avec une alimentation contenant suffisamment d'hydrates de carbone, les microbes intestinaux, ferments mixtes, trouveront un milieu chimique favorable et le plus fort d'entre eux, le *B. bifidus*, deviendra prédominant dans la dernière moitié du gros intestin. Là, *son action sera doublement favorable*. Par sa production d'acides, *il excitera, d'une part, le péristaltisme*[2] intestinal, amenant les évacuations quotidiennes, empêchant la constipation de se produire; *il exercera d'autre part une action empêchante*, non seulement sur les bactéries nuisibles, venues du dehors, mais encore sur toute cette flore surajoutée dont l'action ne peut être que mauvaise. Ainsi la *Flore fondamentale reste inoffensive et empêchante*, telle qu'elle était chez le nourrisson.

Quand l'enfant ne prendra qu'une alimentation végétarienne,

1. Veillon et Zubér, *Arch. de méd. exp.*, n° 4, juillet 1898.

2. Bokai a constaté que les acides de fermentation produisaient chez le chien une exagération de peristaltisme intestinal.

l'intestin contiendra plus de sucre et les bactéries productrices d'indol ou de phénols en produiront moins. Le *B. bifidus* aura un développement plus considérable. Il formera, comme nous l'avons vu, près de 80 0/0 des colonies. Son action favorable n'en sera que plus grande. Il est évident aussi que les bactéries surajoutées, qui se développeront le mieux, seront des ferments mixtes. Quelques-unes posséderont même une acidité d'arrêt élevée. *B. perfringens* = 343, *Staphyl. parvulus* = 1.96 *B. funduliformis* et *D. orbiculus* = 1.47. En ne considérant que leur fonction acidifiante, leur rôle pourrait paraître alors plutôt favorable; mais elles en ont d'autres, comme nous venons de le voir, plus à redouter. Ces dernières fonctions sont, évidemment, atténuées, puis arrêtées, dans les milieux sucrés du fait de la production simultanée d'acide; mais, si atténuées soient-elles, elles seraient encore à craindre si ces espèces pouvaient se développer à leur aise. L'action empêchante de *B. Bifidus* sera donc, même dans ces cas, encore bienfaisante. Les selles auront une réaction acide, dégageront une faible odeur (odeur de tannerie). Les urines contiendront moins encore de sulfoconjugués. Pour $0^{gr},344$ de SO^4H^2 des sulfates totaux, on trouve $0^{gr},0029$ de SO^4H^2 des sulfoconjugués. Le rapport de leur acide à 100 grammes d'acide sulfurique des sulfates totaux = 0,87, à 2. La flore intestinale sera donc encore moins nuisible que dans le cas précédent. Son action empêchante rappellera celle des enfants au sein. L'observation clinique confirme cette manière de voir. La constipation est inconnue chez les enfants végétariens et, dans tous les cas que nous avons pu suivre, nous n'avons jamais constaté de troubles digestifs.

Quand l'alimentation sera riche en matières albuminoïdes animales, nous nous trouverons en présence de phénomènes inverses. Les bactéries productrices d'indol et de phénols en donneront beaucoup plus, ayant moins de sucre à leur disposition. Le *B. bifidus* se développera moins bien; il formera, au

1. Cette petite quantité des sulfoconjugués chez les végétariens a été indiquée par de nombreux auteurs : Hoppe-Seyler, Rothmann, Gottwald, Krauss, Hirschler, Combes, etc.

Toutes les analyses dont il est fait mention dans ce mémoire ont été faites par M. Paul Garnier. Le dosage des sulfoconjugués a été fait par la méthode de Baumann.

plus, 50 0/0 des colonies. Les espèces surajoutées se développeront plus aisément. Parmi elles, le *Coccob. Præacutus*, le *Coccob. Oviformis*, le *B. Ventriosus* ferments acides insignifiants ou nuls, attaquant surtout les protéoses, ne feront qu'augmenter l'alcalinité du milieu. Les selles seront neutres ou alcalines, elles dégageront une odeur sulfureuse, fécaloïde analogue à celle de l'adulte. Les urines seront plus riches en sulfo-conjugués. Pour 1gr286 d'acide sulfurique des sulfates totaux, on trouve 0gr,06 de SO^4H^2 des sulfoconjugués, p. 1000 d'urine. Le rapport de l'acide de ces sulfo-éthers à 100 gr. celui des sulfates totaux = 4 à 6. La flore intestinale est moins inoffensive et moins empêchante. Si on persiste dans cette alimentation mauvaise, le milieu chimique intestinal, riche en déchets protéïques, nettement alcalin, sera facilement infecté par des espèces pathogènes dont la plupart ne peuvent se développer que dans de semblables milieux. Le *B. bifidus* disparaîtra ou n'arrivera plus à former que 20 0/0 environ des colonies totales. Le rapport de l'acide sulfurique des sulfoconjugués à 100 gr. de celui des sulfates totaux pourra atteindre, *avec une alimentation identique*, 23. Les troubles digestifs deviendront de plus en plus fréquents et compromettront le développement régulier de l'enfant.

Si donc on veut éviter les troubles digestifs si fréquents au moment du sevrage, le plus simple sera de conserver chez l'enfant, le plus longtemps possible, au moyen d'une alimentation surtout végétarienne, les propriétés empêchantes de sa *flore intestinale fondamentale*.

DESCRIPTION DES MICROORGANISMES. — Nous ne donnerons que la description des espèces nouvelles, exception faite pour le *B. fundiliformis* de J. Hallé, dont nous avons dû préciser les propriétés chimiques.

COCCOBACILLUS PRÆACUTUS. — Nous avons rencontré cette espèce chez des enfants à l'alimentation mixte ; elle est surtout fréquente chez les enfants alimentés avec du lait de vache pur, des œufs ou de la viande.

Elle se présente, dans les selles, sous la forme d'un coccobacille à extrémités très fines et très pointues, en forme de navette, rappelant un peu le spirille de la bouche, tantôt isolé, tantôt groupé par 2 ou 3 et même quelquefois en longues chaînes de 8 à 10 éléments. La longueur moyenne de chaque

élément est environ 5 à 10 μ. Dans les cultures, ce coccobacille se montre peu polymorphe et dans les colonies un peu vieilles, on peut trouver, à côté des formes que nous venons de décrire, des formes renflées possédant un point brillant à l'une de ses extrémités. Il se colore très bien par les colorants basiques ordinaires, sauf par la méhode de Gram.

Il est très mobile. Ses mouvements sont onduleux et très rapides.

Sa vitalité dans les milieux sucrés peut atteindre 8 à 10 jours. C'est un anaérobie strict poussant à 37° et à 22°.

En gélose sucrée profonde, il pousse en 24 ou 36 heures, en donnant de fines colonies transparentes, très régulières, de forme lenticulaire dont les plus grosses peuvent atteindre 1 à deux millimètres. Elles donnent des gaz abondants fragmentant rapidement le milieu. La gélose devient acide et ne dégage aucune odeur. Il pousse mal en gélatine en donnant de fines colonies qui ne liquéfient jamais le milieu.

Dans les milieux liquides il produit un trouble léger. Au bout de quelques jours, il se forme un dépôt pulvérulent. Il ne coagule pas le lait. Il n'attaque pas le blanc d'œuf cuit.

Il est sans action sur le lactose et le saccharose, mais attaque le glucose en donnant une acidité d'arrêt de 1,47 p. 1000 en SO^4H^2.

Il n'attaque que les protéoses, sans jamais donner d'indol. Il dédouble la crème du lait et forme des savons alcalins.

Il ne s'est jamais montré pathogène dans les 5 cas où il a été rencontré.

Il diffère du *B. fusiformis* de Veillon et Züber par sa mobilité, sa vitalité plus grande.

Coccobacillus oviformis. — Cette espèce a été rencontrée chez des enfants ayant une alimentation mixte ou riche en matières albuminoïdes. Elle a été signalée, la première fois, croyons-nous, par Jacobson qui n'a malheureusement pas pu l'étudier.

Elle se présente, dans les selles, soit sous la forme d'un court batonnet ou d'un coccus allongé, soit, plus souvent, sous la forme de diplocoques à grains ovales, rappelant assez bien les formes ordinaires de l'entérocoque. Dans les milieux liquides ce coccobacille peut donner des chaînes de 5 à 6 éléments. Il est polymorphe. Il se colore bien par les méthodes ordinaires, ainsi que par la méthode de Gram. La couleur se fixe de préférence aux extrémités.

Il est immobile. Sa vitalité ne dépasse guère 5 à 6 jours. C'est un anaérobie strict poussant à 37° et à 22°.

Il donne, dans la gélose profonde, des colonies lenticulaires, opaques, blanchâtres et de grosseur très variable. Les plus grosses peuvent atteindre 2 à 3 mm. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse en gélatine en donnant de fines colonies qui ne liquéfient jamais le milieu.

Dans les milieux liquides il donne un trouble léger avec dépôt pulvérulent Il ne coagule jamais le lait et n'attaque pas le blanc d'œuf.

Ses propriétés chimiques, semblent assez spéciales. Sans action sur le lactose et le saccharose il attaque le glucose en donnant une acidité faible 0,98 (p. 1000 en SO^4H^2). Il attaque les peptones sans produire d'indol.

Il ne s'est jamais montré pathogène. Cette espèce est très voisine du coccobacille rencontré par Veillon et Morax dans une péricystite lacrymale gangreneuse. Elle n'en diffère que par quelques caractères : absence de gaz fétides dans les cultures, aucune action pathogène.

Diplococcus orbiculus. — Cette espèce se rencontre fréquemment dans les selles de jeunes enfants, elle est facile à reconnaître au simple examen direct. C'est un très gros diplocoque à grains réguliers bien arrondis accolés par une surface plane, deux à trois fois plus gros que le gonocoque. Dans les cultures, on voit parfois un de ses grains s'allonger ou même se subdiviser en grains plus petits. Il se colore bien par les colorants ordinaires ; mais se décolore par la méthode de Gram.

Il est immobile et est facilement tué par une température de 60°. C'est un anaérobie strict ne poussant qu'à 37°. Sa vitalité ne dépasse guère 6 à 8 jours.

Dans la gélose profonde, il donne en 36 ou 48 h. de grosses colonies lenticulaires très régulières, peu épaisses, d'une coloration blanchâtre, presque transparentes. Il ne donne jamais de gaz. On n'obtient pas de culture en gélatine à 22°.

Il trouble légèrement les milieux liquides et donne, au bout d'un certain temps, un dépôt grumeleux. Il ne coagule pas le lait et n'attaque pas le blanc d'œuf cuit.

Il attaque le glucose en donnant une acidité d'arrêt de 1.47 à 1.96. Son action est plus faible sur le lactose (0.49). Il n'attaque pas la saccharose. Il attaque les protéoses sans jamais donner d'indol.

Il ne s'est jamais montré pathogène.

Cette espèce se rapproche beaucoup du *Dipl. reniformis* de Cottet[1]. La bactérie isolée par ce dernier auteur, est beaucoup plus petite, est pathogène et donne des cultures dégageant une odeur désagréable.

Bacillus ventriosus. — Cette espèce est beaucoup plus rare que la précédente. Nous ne l'avons rencontrée que chez des enfants ayant une alimentation analogue à celle de l'adulte. Elle existe également chez le chien.

Elle se présente, dans les selles, sous forme d'un petit bacille fin, rigide, à bouts carrés, isolé ou groupé par 2 ou 3 éléments.

Dans les milieux solides, il donne parfois de très longues chaînes de 40 à 50 éléments très courts. Quand le milieu est peu nutritif, il se renfle à sa partie médiane et donne l'aspect d'un « peloton de jardinier. » Il se colore par les colorants basiques ordinaires et par la méthode de Gram. Les parties renflées gardent fortement la couleur.

Il est immobile, ne donne pas de spores. Il meurt dans les cultures au bout de 4 à 5 jours. Il ne se développe qu'à 37°. C'est un anaréobie strict. Dans la gélose profonde il donne de fines colonies lenticulaires régulières à bord net, qui, lorsqu'elle sont bien développées, peuvent atteindre 2 à 3 mm. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse dans la gélatine à 37° sans la peptoniser.

1. Cottet, *Thèse de Paris*, 1899.

Dans les milieux liquides, il donne un trouble léger qui forme par la suite un dépôt pulvérulent. Il ne coagule pas le lait.

Ce bacille n'attaque ni le lactose, ni la saccharose. Il donne dans les milieux glucosés une acidité ne dépassant pas 0.98 p. 1000 en SO^4H^2.

Il est sans action sur les albuminoïdes naturels, n'attaque que les protéoses, sans donner d'indol. Il n'est pas pathogène.

Bacillus Capillosus. — Nous n'avons rencontré cette espèce que deux fois chez des enfants ayant une nourriture mixte.

Elle se présente dans les selles sous la forme d'un gros bacille incurvé ou encore sous la forme de filaments plus ou moins infléchis. Il rappelle par sa forme et sa grosseur le *B. perfrinyens* dont il diffère par les caractères de coloration.

Dans les milieux de culture solides, cette bactérie se montre sous des aspects très différents. Ce sont, tantôt des formes bacillaires, régulières, isolées ou en chaînes de 2 à 3 éléments, tantôt de longs filaments enroulés sur eux-mêmes, enchevêtrés parfois en « peloton de cheveux ». Il donne aussi des formes en spirales, à masse centrale épaisse, à extrémités fines, analogues à celles qu'on rencontre parfois dans les vieilles cultures *de B. Acidophilus*.

Ce bacille prend bien les colorants basiques ordinaires ; mais est complètemeut décoloré par la méthode de Gram.

Il est immobile, ne donne pas de spores. Sa vitalité peut atteindre 10 à 15 jours. C'est un anérobie strict ne poussant qu'à 37°.

Dans la gélose sucrée il donne, au bout de 48 heures, de fines colonies granuleuses, irrégulières. En se développant, elles émettent de fins prolongements rayonnants, assez réguliers, qui peuvent se diviser à leur tour. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse dans la gélatine à 37° sans peptoniser le milieu qui redevient solide par le refroidissement.

Il se développe mal dans les milieux liquides et ne donne qu'un trouble insignifiant. Il ne coagule pas le lait.

Il attaque légèrement le glucose en donnant une faible quantité d'acide : 0.49 p. 1000 en SO^4H^2. Il est sans action sur le lactose et le saccharose. Il n'attaque pas les matières albuminoïdes non hydratées ; mais seulement les protéoses, sans jamais donner d'indol.

Il ne s'est pas montré pathogène pour les animaux de laboratoire.

Bacillus funduliformis. — (J. Hallé) [1]. Nous avons rencontré cette espèce chez 7 enfants ayant une alimentation mixte, composée surtout de végétaux Nous l'avons également trouvée chez le chien.

Nous renvoyons pour la description morphologique de ce bacille à la thèse de Jean Hallé, nous ne donnerons que ses caractères chimiques.

Il attaque le glucose le lactose et le saccharose en produisant une acidité d'arrêt pouvant osciller entre 1.47 et 1.96 p. 1000 en SO^4H^2.

Il est sans action sur les matières albuminoïdes naturelles mais dédou-

1. J. Hallé, *Thèse de Paris*, 1898.

ble les protéoses sans donner d'indol. Il produit dans cette attaque une petite quantité d'hydrogène sulfuré.

Dans les 7 cas où nous l'avons trouvé, il ne s'est montré pathogène qu'une fois.

CONCLUSIONS

La flore intestinale de l'enfant de 1 à 5 ans se transforme à mesure que la nourriture habituelle se fait plus variée. Composée au début du sevrage comme celle du nourrisson, elle s'enrichit, petit à petit, d'une série d'espèces qui ont tendance à s'acclimater dans l'intestin. Si bien qu'à l'âge de 5 ans, alors que le sevrage est complètement terminé, que l'enfant s'alimente à peu près comme l'adulte, on peut considérer dans l'intestin : une *flore fondamentale*, vestige de la flore du nourrisson, de composition analogue, comprenant d'abord le *B. bifidus*, *l'enterocoque*, le *B. coli* et accessoirement le *B. acidophilus*, le *B. exilis*, le *B. III de Rodella*, qui est fixe et constante et une *flore surajoutée* de composition très variable (*B. perfringens*, *coccobacillus præcutus*, *staphylococcus parvulus*, *B. funduliformis*, *B. capillosus*, *B. ventriosus*, *diplococcus orbiculus*, *coccobacillus oviformis*, *levures*). La première est de beaucoup la plus importante; elle est à la seconde, chez l'enfant végétarien, dans le rapport de 90 à 10 et 80 0/0 de colonies sont encore formées par le *B. bifidus*. Chez l'enfant ayant une alimentation mixte, le rapport est de 80 à 20 et 70 0/0 des colonies sont formées de *B. bifidus*. Chez l'enfant alimenté avec une assez grande quantité de matières albuminoïdes animales, le rapport est de 70 à 30, avec 50 0/0 seulement de colonies de *B. bifidus*.

Pas plus que chez le nourrisson, l'action chimique des microbes intestinaux ne sert à l'organisme, mais elle n'est pas aussi inoffensive, comme semble le démontrer la teneur des urines en sulfoconjugués. Peu nuisible chez l'enfant végétarien, elle l'est plus chez l'enfant ayant une alimentation mixte et le devient plus encore chez l'enfant prenant beaucoup de matières albuminoïdes d'origine animale. Cette action mauvaise est surtout le fait de la *flore surajoutée* dont certains éléments possèdent en outre des propriétés pathogènes et sont capables de créer des processus gangreneux. En général, plus une flore

intestinale sera riche en espèces surajoutées, plus son action nuisible sera grande. Les microbes de la *flore fondamentale*, au contraire, auront, comme chez le nourrisson, des propriétés empêchantes. Un régime alimentaire, qui permettra à ces espèces de persister dans le tube digestif et d'y garder une action prépondérante, sera le meilleur des régimes, celui qui mettra l'organisme le plus à l'abri des infections intestinales. L'observation clinique vient à l'appui de cette manière de voir.

Le 26 *juillet* 1907.

EXPLICATION DES PLANCHES I ET II

Fig. 1. — Selle d'un enfant normal agé de 19 mois. Nourri au sein par la mère jusqu'à 6 mois. De six mois à un an, on donne, en plus du sein, du lait bouilli coupé de moitié d'eau. A un an, on supprime graduellement le lait. On donne, dans la journée, 4 potages au pain et aux légumes et quelquefois des bouillies au lait coupé de moitié d'eau. Depuis 2 mois on ajoute au repas de midi une purée de pomme de terre. L'enfant n'a jamais été malade (obs. 79) g = 1,500 diamètres.

Fig. 2. — Selle d'un enfant normal agé de cinq ans. Alimentation végétale depuis le sevrage. Régime actuel: le matin : soupe aux légumes ou panade - à midi et le soir: un potage, un légume farineux ou une pâte, un légume vert; un dessert (confitures, fruits cuits ou gâteaux secs) (obs. 99) g = 1,500 d.

Fig. 3. — Selles d'un enfant normal agé de quatre ans et demi. Alimentation contenant des matières albuminoïdes d'origine animale. (lait, fromage, œufs, viande ou poisson) depuis le sevrage. Régime actuel le matin: soupe ; à midi : un peu de viande, un légume farineux ou une pâte, un légume vert cru en salade, un dessert (fruits cuits ou crus ou petits fours ; à 4 h: pain et beurre ; le soir : soupe aux légumes ou du lait, un œuf à la coque, une salade. g = 1,500 d.

Fig. 4. — Coccobacillus proeacutus (espèce nouvelle), culture en gélose de 4 jours (obs. 89) g = 1,500 d.

Fig. 5. — Coccobacillus oviformis (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs.) g = 1,500 d.

Fig. 6. — Diplococcus orbiculus (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs. 86) g = 1,500 d.

Fig. 7. — Bacillus ventriosus (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours)obs. 100) g = 1,500 d.

Fig, 8. — Bacillus capillosus (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs. 77) g = 1,500 d.

ERRATA

Dans le numéro de décembre 1907, page 991, — Mémoire intitulé : Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris, lire : *G. Belonovski* au lieu de *J. Belonovski*.

Dans le n° du 25 janvier 1908. — Travail de M. Nicolle et E. Pozerski :

Page 50, ligne 26. Au lieu de : Actions indirectes, lire : Action directe.

Page 51, ligne 9. Au lieu de : Prédominance même très marquée), lire : prédominance (même très marquée).

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

Le Gérant : G. Masson.

22me ANNÉE MARS 1908. N° 3

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Études sur la Fièvre Méditerranéenne

Chez les Chèvres algéroises en 1907

Par les Drs Edmond SERGENT, V. GILLOT et G. LEMAIRE

Nos connaissances sur l'épidémiologie de la fièvre méditerranéenne ont fait un grand pas lorsque, le 14 juin 1905, Thémistocle Zammit, membre de la Commission de la *Royal Society* chargée de l'étude de cette maladie, découvrit qu'une infection naturelle par le *Micrococcus melitensis* existe chez les Chèvres de l'île de Malte. La commission a conclu de ses recherches qu'à Malte la moitié des Chèvres est atteinte de fièvre méditerranéenne, et que chez le dixième d'entre elles le microbe passe constamment dans le lait [1].

Le lait infecté, ingéré par des Singes, leur donne presque toujours la fièvre méditerranéenne. D'autre part, à partir de juillet 1906, le lait de Chèvre que buvaient les soldats et les marins en garnison à Malte ayant été remplacé par du lait condensé, le nombre des cas a promptement diminué et a été presque nul en 1907.

Le rôle du lait de Chèvre dans l'épidémiologie de la fièvre méditerranéenne étant ainsi établi, il était indiqué d'étudier l'infection naturelle des Chèvres dans les villes, comme Alger, où sévit cette maladie. C'est ce que nous avons fait durant l'été 1907.

Chèvres algéroises.

Les Chèvres laitières sont à Alger en majorité de race maltaise; on trouve aussi un certain nombre de Chèvres espa-

1. *Reports of the Commission for the investigation of mediterranean fever, under the supervision of the Royal Society*, part VII, p. 4.

gnoles, et des produits croisés. Nous n'avons pas vu, à Alger-ville, une seule Chèvre de race indigène. Les chevriers sont presque tous maltais, quelques-uns sont espagnols. La plupart habitent la partie du faubourg Bab-el-Oued que l'on appelle la Carrière, où beaucoup sont groupés dans la petite rue de la Vigie. Les Chèvres y vivent enfermées dans des étables, en général basses, mal aérées, trop petites, au sol mal pavé et coupé de rigoles à purin difficiles à nettoyer. La pâture leur est offerte dans des mangeoires communes, de chaque côté desquelles elles sont attachées et dans lesquelles les chevriers marchent souvent pour traverser l'étable. Ces Chèvres ne sortent que le matin vers quatre heures et demie; chaque troupeau se rend au « poste » qui lui est fixé en ville par la municipalité. Là, les Chèvres stationnent au milieu de la chaussée, souvent couchées parmi les immondices, ou bien pénètrent dans les couloirs, les cafés. Le chevrier les trait à tour de rôle sur le trottoir pour remplir les tasses et écuelles de toutes sortes de ses clients. A chaque quart de litre de lait de Chèvre, mesure ordinaire, il ajoute d'office une cinquantaine de centimètres cubes de soi-disant lait de Vache apporté de l'étable dans un bidon. Un certain nombre d'acheteurs boivent ce lait séance tenante. A sept heures du matin, toutes les Chèvres ont repris le chemin de l'étable qu'elles ne quitteront pas jusqu'au lendemain. Beaucoup de ces Chèvres cheminent muselées. Il est enfin des chevriers qui gardent continûment leurs Chèvres à l'étable. On sait qu'à la Valette, au contraire, on voit des Chèvres circulant dans les rues toute la journée de 6 heures du matin à 9 heures du soir.

Technique employée.

Nous avons prélevé, au poste ou dans les étables, du lait à *toutes les Chèvres fournissant du lait* à Alger au moment de notre enquête. Il manquait donc les Chèvres pleines ou indisponibles. Le lait était recueilli dans des tubes flambés débouchés sous le jet de lait. Sur chaque tube une étiquette indiquait le numéro du troupeau et le signalement de la Chèvre ou, le cas échéant, son nom. Le lait était porté de suite au laboratoire, trois gouttes (1/10 de c. c.) étaient ensemencées sur gélose inclinée, et une goutte était diluée dans neuf gouttes d'eau distillée stérile contenue dans un verre de montre flambé. Ces dix gouttes étaient

mêlées à dix gouttes d'une émulsion, dans de l'eau distillée stérile, d'une culture d'un *M. melitensis* d'origine humaine, ce qui donnait une dilution du lait au 1/20. L'agglutination était observée macroscopiquement dans des tubes de 6m/m de diamètre intérieur, puis microscopiquement : les résultats de la culture étaient recherchés pendant 10 jours au moins ; ceux de l'agglutination étaient observés au bout de quelques heures de 24 heures, de 48 heures.

Résultats.

Le tableau suivant groupe les troupeaux suivant la situation de leurs étables :

QUARTIER BAB-EL-OUED.

	NUMÉRO du troupeau.	NOMBRE de Chèvres.	LAITS agglutinants,	LAITS A *M. melitensis.*
Rue de la Vigie.	1	6	0	0
	3	15	0	0
	7	10	2 (en qq. heur.)	1 ?
	9	17	0	0
	11	12	0	0
	14	4	0	0
	16	12	0	0
	18	12	0	0
	20	9	0	0
	21	10	0	0
	22	17	0	0
	26	20	2	0
	27	25	1	0
	28	15	0	0
	36	24	2	0
	37	9	1	0
	38	30	4	1 ?
	40	22	0	0
	41	21	3	0
	42	24	?	0
	44	21	0	0
	45	12	0	0
	49	9	0	0
	51	10	0	0
	54	10	0	0
Beau fraisier...	6	9	2	0
	8	8	0	0
	25	23	0	0
	30	2	0	0
	33	23	2	0
	53	11	?	0
Rue de C.......	12	9	0	0
Rue de P. D....	15	12	0	0
Rue de P.......	35	39	5	0
Rue de B.......	47	6	0	0
Rue de N.-D ...	52	5	0	0
Rue du F.-V...	56	10	0	0

	NUMÉRO du troupeau.	NOMBRE de Chèvres.	LAITS agglutinants.	LIATS A *M. melitensis*.
Quartier des Tagarins.				
	10	13	0	0
	13	19	2	0
Quartiers de Mustapha-Belcourt.				
Isolés les uns des autres.	2	9	0	0
	4	7	0	0
	23	10	0	0
	55	8	0	0
	46	1	0	0
Quartier du Ruisseau.				
	24	4	0	0
	34	5	0	0
Totaux.....	46 troupeaux.	609 Chèvres.	26 lactoréactions positives.	2 *pseudo-melitensis* isolés.

Le tableau suivant indique, pour chaque quartier, le nombre de Chèvres laitières en 1907, et parmi elles le nombre des infectées (à lactoréaction de Zammit positive) :

QUARTIERS	TROUPEAUX Nos	NOMBRE de Chèvres.	NOMBRE DE Chèvres infectées.
De la Préfecture	1, 7, 20, 33, 38, 41, 44, 49	129	11
Entre la rue Bab-el-Oued et la rue Randon.	6, 11, 36, 40, 52, 54, 56	91	2
Des rues de la Lyre et de Chartres........	6, 10, 14, 15, 16, 25, 28, 30, 44, 51	121	2
De la Casba, au-dessus de la rue Randon.	9, 13, 25,26, 27, 37, 42	137	6
Des Tournants Rovigo.	3, 21, 22	42	0
Du faub. Bab-el-Oued.	12, 18, 26, 28, 35, 42, 44, 45, 47, 53	169	7
Du faub. Mustapha-Belcourt	2, 4, 23, 46, 55	35	0
Du faub. du Ruisseau.	24, 34	9	0

Ce tableau montre que la traite et la vente du lait de Chèvre dans les rues ne s'opèrent que dans les quartiers ouvriers d'Alger. Le quartier où va le plus grand nombre de Chèvres infectées est celui de la « Préfecture », bien connu comme le quartier le plus malsain, à tous les points de vue, de la ville d'Alger.

Remarques.

Une seule fois l'agglutination fut immédiatement complète par la lactoréaction : le lait de cette Chèvre (troupeau n° 38) agglutinait même au 1/120. Nous en isolâmes un petit Micro-coque présentant tous les caractères du *M. melitensis*, sauf la faculté d'être agglutiné par un sérum typique [1]. La lactoréaction de cette Chèvre fut constatée durant les mois de juin et de juillet, puis on nous empêcha de revoir la Chèvre, sous des prétextes divers. Le lait d'une Chèvre du troupeau n° 7, qui agglutinait au 1/20, contenait également un *pseudo-melitensis* non agglutiné par un sérum typique (sérum de Chèvre indigène ou de *Macacus inuus* inoculés avec un *M. melitensis* d'origine humaine). Plusieurs de ces troupeaux furent examinés à différentes reprises au cours de l'été, avec des résultats analogues chaque fois.

Dans le troupeau n° 35, on put procéder à la fois à la séro-réaction et à la lactoréaction : les 4 Chèvres dont le lait agglutinait avaient en même temps un sérum agglutinant, même soumis à une dilution supérieure au 1/100; une cinquième Chèvre, dont le lait n'agglutinait pas, avait un sérum agglutinant.

Il est notable que les 26 latoréactions positives ont été trouvées dans 11 troupeaux. On avait déjà remarqué à Malte que l'infection des Chèvres n'est pas sporadique, mais frappe d'habitude plusieurs Chèvres dans un même troupeau.

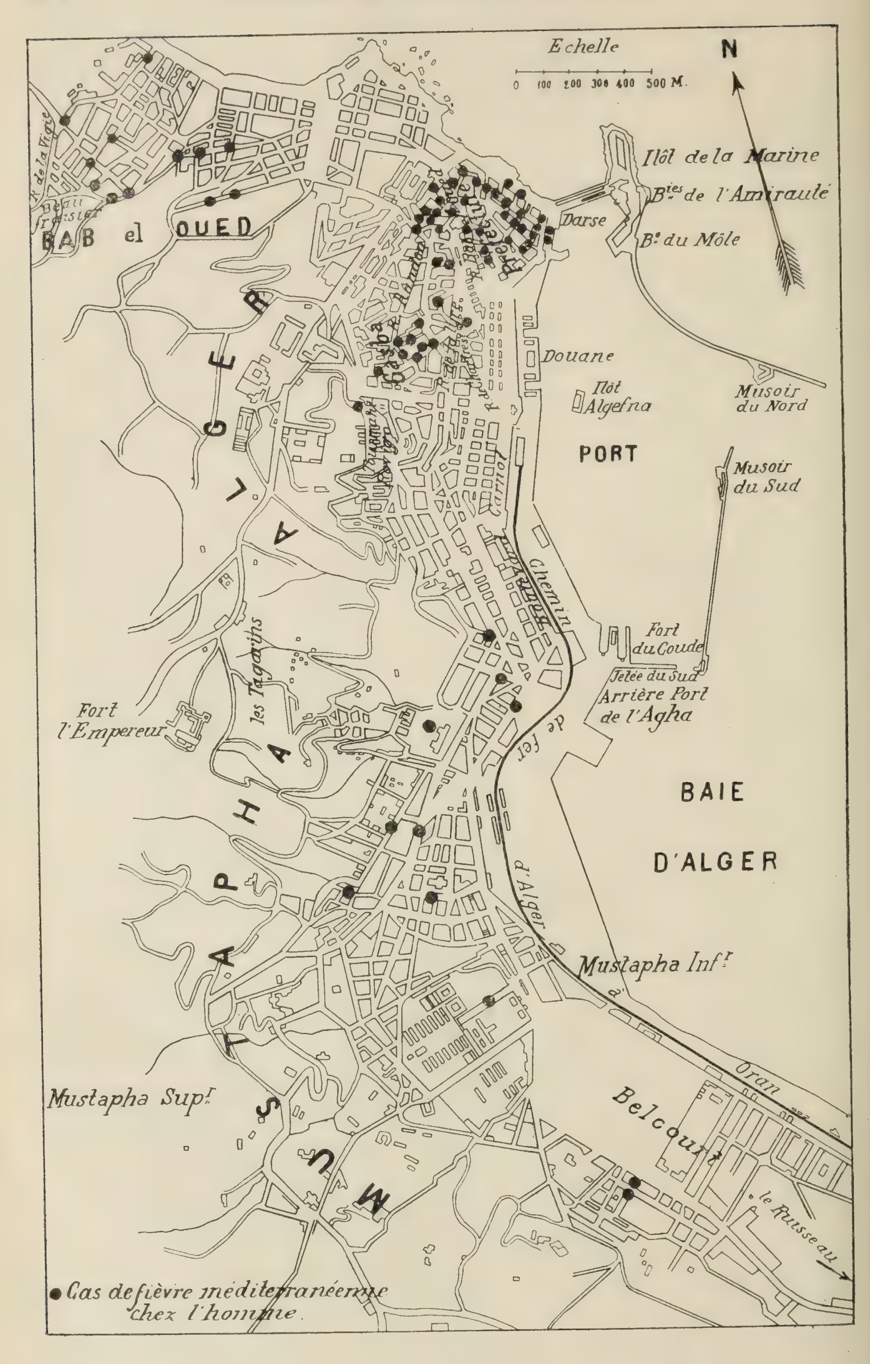
. . . .

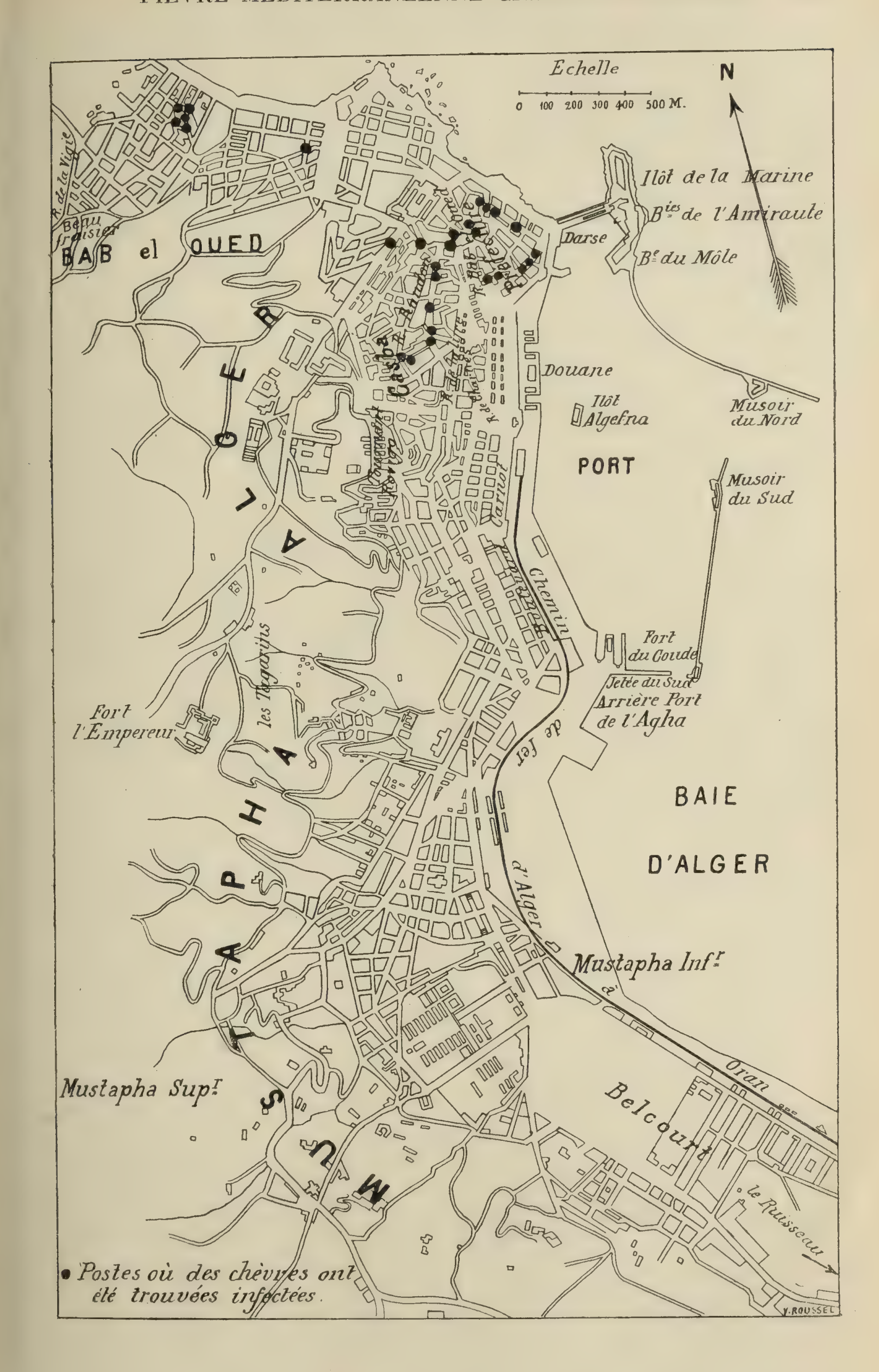
Si nous comparons nos résultats avec ceux de la commission anglaise à Malte, nous voyons que

1° A Malte toutes les Chèvres sont de race maltaise. A Alger il y a un certain nombre de Chèvres espagnoles ;

2° A Malte, en 1906, le nombre de Chèvres laitières était de

1. Zammit a aussi isolé du lait un Micrococque présentant ces caractères. (Renseignement inédit.)


Echelle
0 100 200 300 400 500 M.
N
Ilôt de la Marine
Bies de l'Amirauté
Darse
Bt du Môle
BAB el OUED
ALGER
Douane
Ilôt Algefna
Musoir du Nord
PORT
Musoir du Sud
Chemin de fer d'Alger à Oran
Fort du Coude
Jetée du Sud
Arrière Port de l'Agha
BAIE D'ALGER
Fort l'Empereur
les Tagarins
MUSTAPHA
Mustapha Infr
Mustapha Supr
Belcourt
le Ruisseau
● Cas de fièvre méditerranéenne chez l'homme.


Echelle
0 100 200 300 400 500 M.
N
Ilôt de la Marine
Bies de l'Amiraute
Bt du Môle
Darse
BAB el OUED
ALGER
Douane
Ilôt Algefna
Musoir du Nord
PORT
Musoir du Sud
Chemin de fer d'Alger à Oran
Fort du Coude
Jetée du Sud
Arrière Port de l'Agha
Fort l'Empereur
les Tagarins
BAIE D'ALGER
MUSTAPHA
Mustapha Infr
Mustapha Supr
Belcourt
le Ruisseau
• Postes où des chèvres ont été trouvées infectées.
Y. ROUSSEL

17,488 pour 183.231 habitants. A Alger, en 1907, le nombre de Chèvres donnant du lait ne dépassait pas 609 pour une commune de 97,400 habitants. (A Malte 1 Chèvre pour 10 personnes, à Alger 1 Chèvre pour 159 personnes);

3° A Malte, les Chèvres sont toute la journée en ville. A Alger, on les rencontre durant 2 heures à peine de la matinée;

4° A Malte, la lactoréaction de Zammit est positive dans 30 à 50 0/0 des cas, la lactoculture dans 5 à 10 0/0 des cas. A Alger, la lactoréaction n'est positive que dans 4 0/0 des cas, et la lactoculture n'a pas encore isolé un *M. melitensis* typique.

Nous ajouterons qu'à Gibraltar, en 1905, sur 254 Chèvres maltaises, espagnoles ou de sang mêlé, 2 seulement avaient un lait agglutinant, et le *M. melitensis* fut isolé d'un de ces deux laits [1].

Résumé.

Nous avons examiné, durant l'été 1907, le lait des 609 Chèvres fournissant à cette époque du lait à la ville d'Alger. Nous avons trouvé que le lait de 26 d'entre elles (4, 2 0/0) agglutinait un *M. melitensis* typique retiré du sang d'un malade, ce qui indiquait que ces Chèvres avaient été récemment infectées. Sauf 2 cas particuliers, ces laits agglutinants ne contenaient pas, au moment de la recherche, de microbes identiques au *M. melitensis*.

On peut remarquer que l'infection naturelle des Chèvres algéroises est moindre que celle des Chèvres de l'île de Malte (4, 2 0/0 au lieu de 30 à 50 0/0). Cela tient peut-être à ce qu'elles ne sont pas, comme celles-ci, toutes de race maltaise pure, mais assez fortement mêlées de Chèvres espagnoles.

1. Horrocks, *Reports*, part V, p. 59.

ÉTUDES SUR LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE

Dans le village de Kléber (Oran) en 1907.

PAR LES D[rs] EDMOND SERGENT ET BORIES (D'ARZEW)

Nous avons constaté, en 1907, grâce à la séroréaction, qu'un certain nombre de cas de fièvres à rechutes de la région d'Arzew (Sainte-Léonie, etc.) classées, faute d'éléments précis de diagnostic, comme fièvres typhoïdes, relevaient en réalité de la fièvre méditerranéenne.

Nous avons résolu d'étudier l'épidémiologie de ces cas dans le village fort éprouvé de Kléber, qui offrait à l'observation cet avantage d'être isolé. Ce village est bâti sur les contreforts sud du Djebel-Orous qui le séparent de la mer, à 9 kilomètres à l'ouest de la ville d'Arzew, et à 154 mètres d'altitude.

La région est formée de collines arrondies, coupées de ravins peu profonds; le terrain est siliceux et calcaire, les eaux abondantes sont bonnes. Une route qui se détache, vers le nord, de la grande voie Arzew-Oran, se termine à Kléber. Les habitants que le dernier recensement porte à 1,025, dont 450 français, diminuent de nombre. La ruine de la principale richesse du pays, la vigne, les contraint au départ [1].

Notre étude a eu pour but de rechercher la nature et l'importance du réservoir de virus, et le mode de contamination probable. Nous relevons dans le tableau suivant les données intéressantes à ce point de vue, tirées de l'examen et de l'interrogatoire des malades, de l'examen des Chèvres et des autres animaux domestiques qui vivaient dans le voisinage des malades.

1. Nous avons été très bien reçus par le maire de Kléber, M. Chansor, et par tous les colons à qui nous avons eu affaire, et qui nous ont donné toutes les facilités de recherches.

NUMÉRO	INITIALES des malades	AGE	DURÉE et époque de la maladie.	NOMBRE de rechutes.	Séro-réactions positives.	Buvait du lait de chèvres?	NOMBRE de chèvres.	Lactoréactions positives, 20 nov.	NOMBRE et nature des animaux domestiques.	Séro-réactions positives.
1	Th. (Ste Léonie)	19	4 mois fév.-juin 1907	3	5 juin 1/100 imm. 5 sept. 1/30 imm.	Bouilli toujours				
2	H.	20	6 mois mars-sept. 1907	3	4 juin 1/100 imm. 28 juin 1/100 imm. 4 sept. 1/30 en 24 h.	Bouilli toujours	6	0		
4	Fr. L.	23	4 mois janv.-avril 1907	3	28 juin 1/100 imm. 4 sept. 1/30 en 24 h.	Bouilli N'aime p. le lait				
Employeur des deux précédents 17							11	2 au 1/20 en 48 h.	5 Équidés 1 Porc. 2 Chiens 1 Chat.	1 mu et au 1/20 imm
3	L. R.	23	5 mois mars-juil. 1907		28 juin 1/100 imm. 4 sept. 1/30 imm.	Bouilli N'aime pas le lait	6	1 au 1/20 en 48 h.		
6	Sch. G.	18	6 mois avril-sept. 1907		4 sept. 1/50 imm.	Jamais Ne l'aime pas				
5	Me G.	43	5 mois juin-oct. 1907		28 juin 1/100 en 2 h. 4 sept. 1/30 en 24 h.	Bouilli	7	28 juin 0 20 no. 0		
7	R. A.	21	3 mois juin-sept. 1906	1	4 sept. 1/30 en 24 h.	Cru	6	0		
8	R. P.	25	3 mois 1906		Impossible					
9	S. B.	25	4 mois fév.-mai 1906	3	4 sept. 1907 1/30 en 24 h	Jamais bu. Ne l'aime pas				
10	Me T.	32	4 mois août-sept. 1906		Impossible					
11	M. P.	11	2 mois avril-mai 1907		4 sept. 1/30 en 24 h.	Toujours bouilli				

Le sérum d'aucun de ces malades n'agglutinait le B. typhique.

Le tableau suivant montre l'infection d'animaux domestiques dans les familles où aucun cas de fièvre méditerranéenne n'a été connu.

Nos	Initiale du propriétaire	Nombre de Chèvres	Lactoréactions positives	Nombre et nature des animaux domestiques.	Séroréactions positives.
XII	G			4 Equidés	4 sept. 20 nov. } 1 au 1/30 en 24 h.
XIII	Beni-O. (indigène.)	20 nov. 7	1 au 1/20 en 24 h.	1 Anesse	4 sept. 1/30 iminéd. 20 nov. 1/100 en 24 h.
XIV	Ch. de D (indig.)			5 Equidés	4 sept. 1 au 1/30 en 24 h.
XV	G (indig.)			1 Cheval	4 sept. 1/30 imméd.
XVI	D. D			1 Chien	4 sept. 1/30 en 24 h.

La réaction agglutinante n'était considérée comme positive qu'après examens macroscopiques et microscopiques concordants.

Remarques cliniques. — Tous ces cas furent fort graves, de longue durée et surtout douloureux. La convalescence était en général lente, l'amaigrissement et l'affaiblissement considérables.

— S.-B. *a perdu* 33 *kilos* en 4 mois (tombé de 95 à 62 kilos). Sch. G. a maigri de 12 kilos, H. de 11 kilos.

— Les *sueurs* furent remarquables chez S. B. que l'on changeait de linge plusieurs fois par nuit.

Les *douleurs rhumatismales* furent intenses chez Sch. G. et L. R. que soignait M. le Dr Bordères, de Saint-Cloud, chez M. P. (souffrances intolérables) chez M. T. Un autre malade : R. P. ainsi que Sch. G. et L. R. ont souffert longtemps de sciatique, surtout au déclin de la maladie.

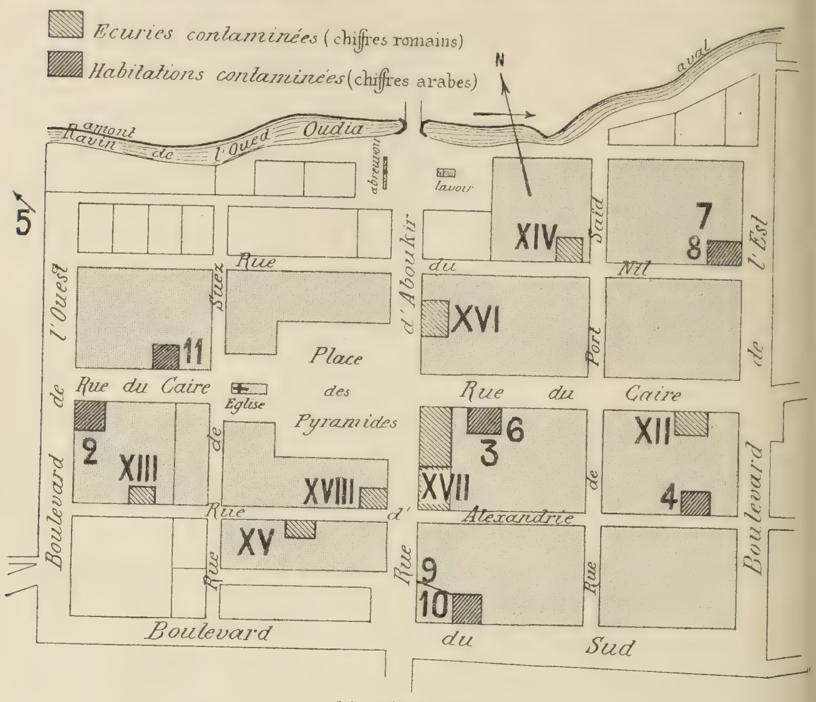
— Sch. G. et L. R. ont eu de la pleurésie, de la pneumonie au cours de leur infection (Dr Bordères).

— Presque tous ces malades, sans avoir de vraies épistaxis, mouchaient du mucus sanguinolent.

RÉSERVOIR DE VIRUS.

Au moment de notre enquête, 8 personnes possédaient à Kléber un sérum agglutinant. Leur maladie remontait parfois à

un an (R. P. nº 8) ou à un an et demi (S. B. nº 9, M. P. nº 11). Parmi les animaux vivant sous le même toit que ces personnes,

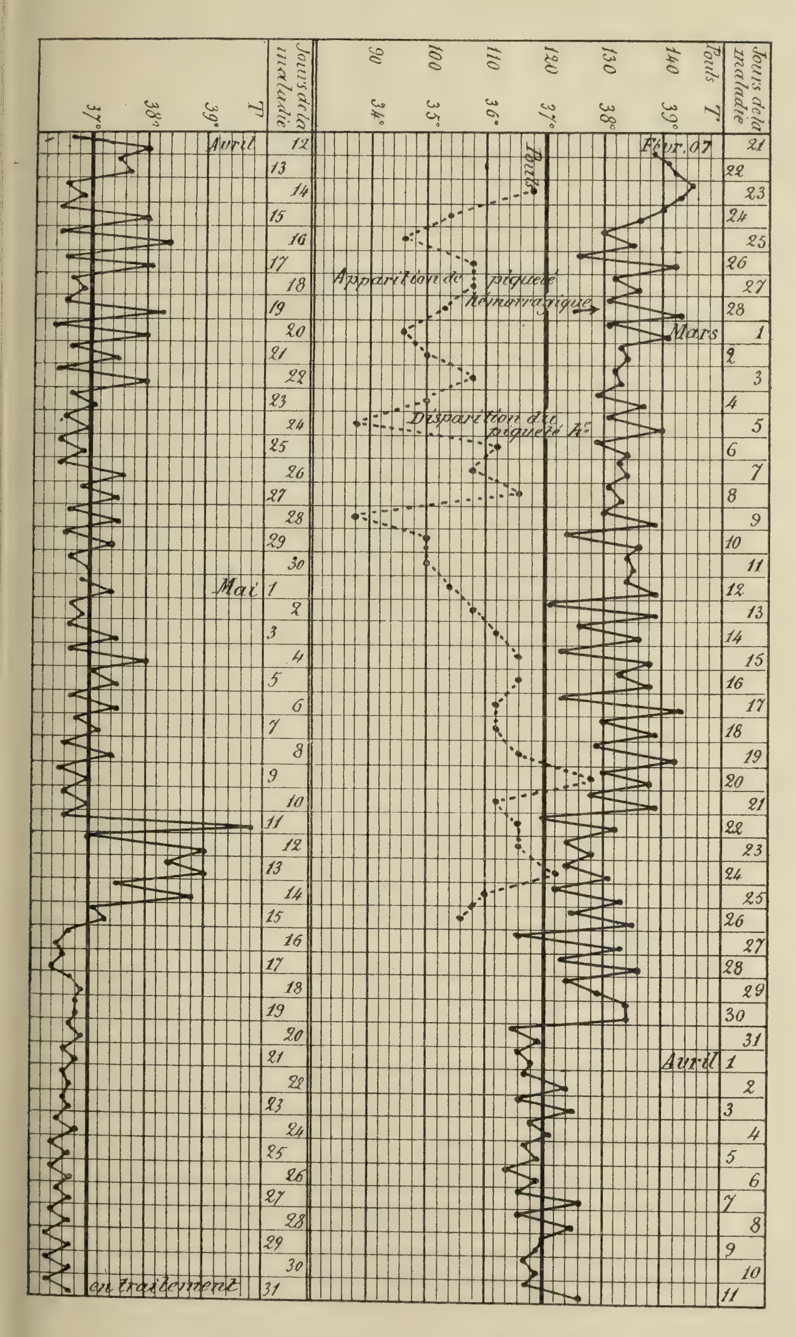


Plan de Kléber.

3 Chèvres sur 36 avaient un lait agglutinant au 1/20 en 48 heures, et 1 Equidé sur 5 un sérum agglutinant au 1/20 immédiatement.

Nous avons étendu le cercle des recherches et avons examiné le lait de *toutes* les Chèvres laitières de Kléber. Actuellement, ces Chèvres sont toutes de race espagnole. Il y a quelques Chèvres maltaises dans la ville voisine d'Arzew[1], et, d'après certains renseignements, il y aurait eu, il y a quelques années, des Chèvres maltaises à Kléber même. Mais ceci n'a pas pu être démontré, et, en 1907, il n'y en avait pas dans ce village. A Kléber, un chevrier communal rassemble chaque matin, au son de la corne, les Chèvres de tous les colons, qu'il conduit aux champs et qu'il ne ramène dans leurs étables qu'à la tombée de la nuit. Le nombre total des Caprins est de 650, dont 303 seulement donnaient du lait lors de notre enquête.

1. Dans la ville d'Arzew, le lait de 35 Chèvres de race espagnole fut examiné le 5 juin 1907. = 0 agglutination.



Courbe du malade n° 1. (Sainte-Léonie.)

Le 28 juin, vu 122 Chèvres, lactoréaction positive 2 fois, lactoculture nulle.

Il n'y a pas eu de fièvre méditerranéenne connue dans les familles Ch. et Ol. à qui appartiennent ces 2 Chèvres.

Le 4 septembre, vu *toutes* les 303 Chèvres laitières : 10 lactoréactions positives.

Le pourcentage des Chèvres à lactoréaction positive est donc de 3,3 0/0.

Le 4 septembre, vu 27 Équidés : séroréaction au 1/30, positive 4 fois.

Le 4 septembre, vu 5 Chiens ou Chats : séroréaction positive 1 fois.

Un Cheval et une Anesse (appartenant à 2 indigènes différents) ont un sérum agglutinant immédiatement au 1/30 et en 24 heures au 1/100. Il est à noter que ces indigènes ont pu avoir des malades dans leur famille, sans appeler le médecin.

En somme, chez 1,025 habitants, nous comptons au minimum [1] 8 séroréactions positives au 1/30.

Chez 303 Chèvres, 10 lactoréactions positives au 1/20.

Chez 27 autres animaux domestiques, 5 séroréactions positives au 1/30.

Ces chiffres donnent l'impression que le réservoir de virus n'est pas, à Kléber, uniquement caprin, mais qu'il y a lieu de tenir compte de l'infection répandue chez les Hommes et chez les animaux domestiques autres que les chèvres.

Modes de contamination.

Nous remarquerons d'abord que l'épidémie de 1906-1907 a revêtu une allure familiale : un seul de nos malades a présenté un cas isolé dans sa famille (nº 5).

Les autres au contraire se groupent ainsi :

— Nº 2 et nº 4 ont eu un employeur commun chez qui ils ont travaillé l'un après l'autre.

— Nº 3 et nº 6 sont parents et vivent ensemble.

— Nº 7 et nº 8 sont frères et vivent ensemble.

1. Nous disons au minimum, parce que nous n'avons pas recherché la séroréaction chez tous les habitants. En dehors des cas faisant penser cliniquement à la fièvre méditerranéenne, nous avons examiné le sang de 8 personnes, dont plusieurs buvaient du lait de Chèvre cru, sans résultats positifs.

— N° 9 et n° 10 sont frère et sœur et habitaient chez leur mère au moment de leur infection.

— N° 11 a un frère qui a présenté en même temps que lui les mêmes symptômes. Le diagnostic de fièvre méditerranéenne n'est pas douteux. Mais ce jeune homme n'a pas pu être examiné : il faisait son service militaire au moment de notre enquête.

Piqûre des Moustiques. Les seuls Moustiques vus à Kléber sont des *Culex*. L'existence des Anophélines y est probable, celle des *Stegomyia* très improbable. Enfin il est impossible d'y admettre la venue des Moustiques marins (*Acartomyia mariæ* Sergent. syn. *Acartomyia zammiti* Theob.) incriminés par E.-H. Ross et G. Murray-Levick. La mer est à 6 kilomètres de distance, et en contre-bas de 154 mètres.

Ingestion de lait de Chèvre. Sur les 9 malades ou convalescents, 1 seul boit le lait de Chèvre cru, 4 prennent ce lait, mais toujours bouilli, 2 n'en prennent que rarement, et toujours bouilli, et enfin 2 ne prennent jamais de lait de Chèvre, qu'ils n'aiment pas. Le cas du jeune Fr. L (n° 4) est intéressant : il n'a aucun goût pour le lait de Chèvre, et n'en boit que rarement, et bouilli. Il a été malade à 23 ans. Son frère Fr. J. au contraire (26 ans) aime à l'extrême le lait de Chèvre, qu'il boit cru à toute heure du jour. Il n'a jamais été malade. Nous signalerons que Mme G. (n° 5), qui a souffert d'une fièvre sévère, a nourri au sein, pendant les 3 premières semaines de sa maladie, son enfant G. C. âgé de 22 mois. Celui-ci ne présenta aucun signe de l'infection et son sérum sanguin n'agglutinait pas.

Contact des hommes ou des animaux malades. — En présence de l'infection relativement restreinte du troupeau de Chèvres, on peut se demander si les personnes infectées, ou les animaux domestiques infectés, autres que les Chèvres ne jouent pas un rôle dans la propagation de la maladie à Kléber. La Commission de la *Royal Society* a montré que la bactériurie est fréquente dans la fièvre méditerranéenne.

Les observations de Fr. L. (n° 4) et de H. (n° 2) sont intéressantes à cet égard. Ces 2 jeunes gens sont de familles différentes (le premier Alsacien, le second Espagnol) qui habitent fort loin l'une de l'autre (voir le plan). Nous avons vu que Fr. L. ne buvait pas de lait de Chèvre. Dans sa famille, où tout le monde en boit, nous avons recherché la séroréaction sans succès chez

sa mère et son frère, qui, d'ailleurs, n'ont jamais présenté les symptômes de la maladie. H. (nº 2), de son côté, ne boit jamais de lait cru.

Ces deux jeunes gens ont été successivement garçons de ferme chez M. A. D. Là, d'après leurs renseignements concordants, et les termes mêmes de la lettre que nous a écrite M. A. D., ils ne s'occupaient jamais des Chèvres « qu'ils n'ont jamais touchées » ; ces Chèvres passent la journée avec le troupeau communal et ont une étable spéciale que jamais les garçons de ferme Fr. et H. n'ont eu à nettoyer. Ils s'occupaient exclusivement des Chevaux et Mulets, au nombre de 5. Le sérum de 1 Mulet agglutinait notre *M. melitensis* typique au 1/20, immédiatement (en présentant le phénomène paradoxal : au 1/20 agglutination complète et immédiate, au 1/10, agglutination complète au bout de 15 heures seulement); le sérum des autres Équidés agglutinait aussi, mais plus faiblement.

Ces 2 garçons de ferme ne se sont donc sûrement pas infectés par le lait de Chèvres, et ont soigné successivement les mêmes bêtes de trait, dont l'une au moins est infectée. Il est rationnel de supposer que l'infection peut leur venir de ces bêtes.

Résumé. — Le village de Kléber, où sévit depuis au moins deux ans une fièvre méditerranéenne dont certaines formes sont graves, comptait, en été 1907, un minimum de 8 personnes à séroréaction positive. La lactoréaction indiquait une infection du lait de 10 Chèvres sur 303, soit 3,3 0/0. Enfin, sur 41 autres animaux de ferme examinés, Chevaux, Mulets, Anes, Chiens, etc., 6 possédaient un sérum agglutinant.

On peut se demander si, dans le cas particulier de Kléber, le réservoir de virus, au lieu d'être surtout caprin, comme à Malte, ne serait pas constitué principalement par les anciens infectés des Hommes et des autres espèces animales. A cette manière de voir viennent apporter leur appui les observations de malades n'ayant jamais bu de lait de Chèvre cru, et celles des deux garçons de ferme dont la contamination paraît bien due au contact de Mulets infectés.

ÉTUDES SUR LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE
Recherches expérimentales en 1907

Par le Dr EDMOND SERGENT.

Les études épidémiologiques faites à Alger et dans le village de Kléber (Oran) ont montré que l'infection, par le *Micrococcus melitensis*, des Chèvres laitières de ces deux localités est inférieure à celle des Chèvres de l'île de Malte : à Alger : 4,2 0/0. A Kléber : 3,3 0/0.

On peut rapprocher de ces faits les constatations de Gillot et Lemaire à Alger, et de nous-même à Kléber, de cas de fièvre méditerranéenne sans ingestion de lait de Chèvre.

Pour expliquer ces cas, on peut émettre l'hypothèse d'une contamination par le contact d'urine d'hommes ou d'animaux infectés. On sait, en effet, que la bactériurie est fréquente chez des malades et des convalescents pendant de longs mois ou même des années[1].

On a donc voulu :

1° Se rendre compte de la réceptivité des Chèvres indigènes de l'Algérie pour le *M. melitensis*, et de la transmission de celui-ci par leur lait ;

2° Mesurer la facilité relative des différents modes d'entrée possibles du virus dans l'organisme d'animaux sensibles, tels que les Singes.

I

CHÈVRE ALGÉRIENNE

Une Chèvre de race indigène, allaitant un jeune chevreau, est achetée à la campagne ; la lactoréaction et la séroréaction, recherchées plusieurs fois, sont négatives.

Le 6 juillet, elle reçoit sous la peau les microbes de 3 tubes (gélose inclinée) d'une culture de 8 jours (origine sang humain).

1. Pour tous les faits déjà connus auxquels je fais allusion, je renvoie aux remarquables séries de recherches de la *Commission of the Royal Society* à Malte, dont les Rapports ont paru en 7 fascicules, de 1905 à 1907. (Harrison and Sons, Londres).

	Séroréaction positive.	Lactoréaction positive
9 juillet.	0	1/20 0
11 —	1/50 + 1/100 0	0
13 —	1/100 + imméd.	+ en 24 h.
14 —	1/300 + imméd. 1/2000 0	+ —
16 —	1/150 +	+ —
18 —	1/500 +	1/30 + 1/100 début en 24 h.
20 —	1/1000 +	1/20 +
23, 25, 26 juillet.	1/100 + imméd.	1/20 +
5, 10, 20, 28 août.	1/100 +	1/20 0
10, 25. 29 sept.	1/100 +	1/20 0
3, 10, 14, 16 octobre.	1/100 +	1/20 0
15 nov. 3, 10 déc.	1/100 +	Sécrétion lactée tarie.

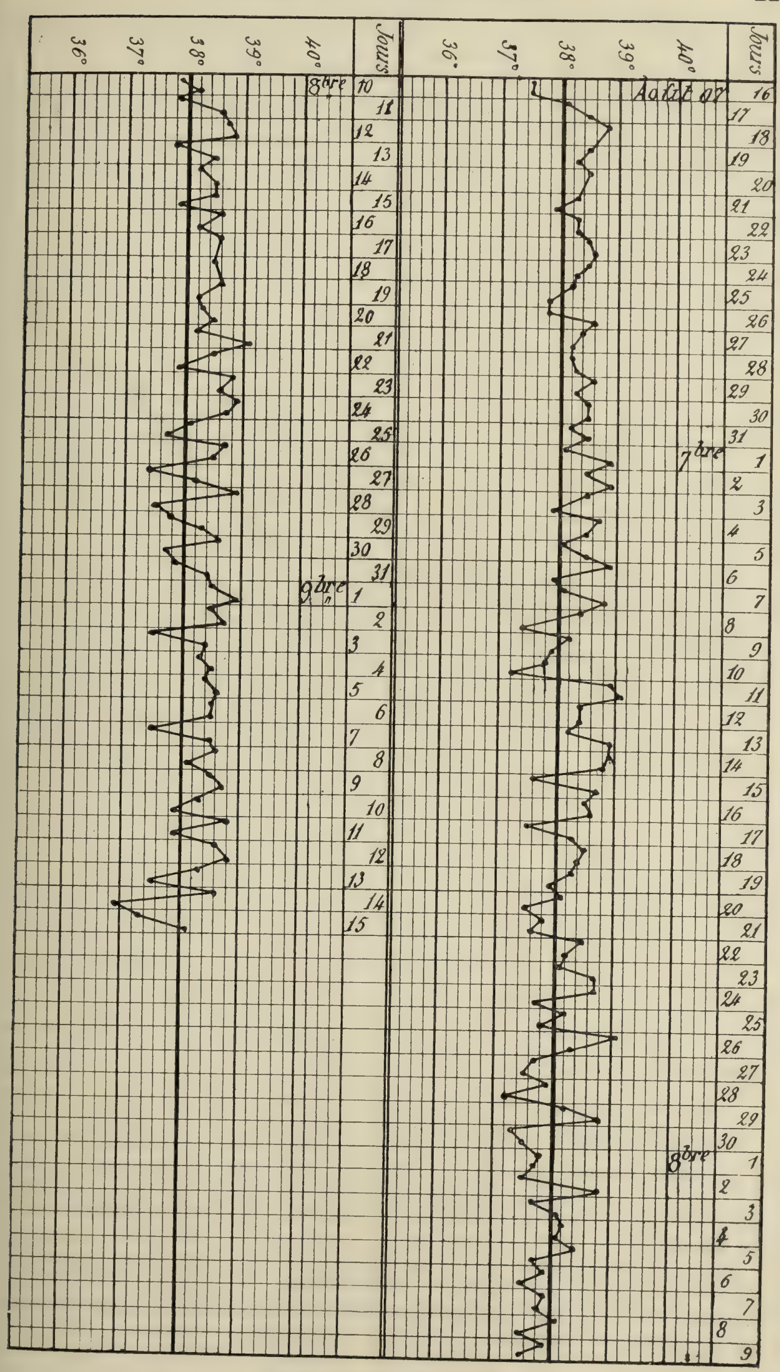
En résumé, la séroréaction est toujours aussi nette après 6 mois, la lactoréaction n'a été positive que le 1er mois.

Les lactocultures faites en même temps que les lactoréactions n'ont jamais donné de résultat positif.

L'urine de cette Chèvre, examinée le 5 et le 15 août, n'agglutinait pas le *M. melitensis* et, ensemencée, ne donnait pas de culture de ce microbe.

Le chevreau, dont le sang a été examiné aux mêmes dates que celui de la Chèvre, qui a continué à l'allaiter jusqu'à la fin, n'a jamais eu le sérum agglutinant.

La Chèvre et le chevreau vivent depuis octobre dans un parc commun avec 1 autre Chèvre, 1 bouc, 2 brebis dont le



Courbe du singe 9 n° 32.

sérum n'était pas agglutinant à la date du 3 décembre. L'expérience de contamination par contact continue.

De l'expérience précédente, il résulte que le lait d'une Chèvre indigène d'Algérie, inoculée sous la peau, n'a contenu que durant 23 jours l'agglutinine spécifique et jamais le *M. melitensis*.

II

DIFFÉRENTS MODES DE CONTAMINATION

Il faut d'abord préciser les formes cliniques de la fièvre méditerranéenne chez le *Macacus inuus*, originaire d'Algérie, dont je me suis servi, et qui ne réagit pas au virus comme les autres *Macacus* inoculés par la Commission de la *Royal Society* à Malte.

Fièvre méditerranéenne et M. inuus.

Certains Singes n'ont pas paru souffrir de leur infection.

Quelques-uns au contraire perdent l'appétit, l'entrain, et subissent un amaigrissement très considérable. Les manifestations ecchymotiques sont particulières et sont surtout nettes à la face, dont nous avons noté dans plusieurs cas l'aspect vultueux. Les conjonctives sont injectées. Comme, en même temps, tout le visage est très amaigri, et revêt une expression triste et souffreteuse, le masque du Singe malade est très caractéristique. Ces càs graves s'accompagnent de melaena, qui dure plusieurs jours, fort abondant. J'ai vu un cas de mort rapide par hémorrhagie intestinale (n° 17). Les Singes ayant eu du melaena sont morts, sauf un (n° 40) déjà assez âgé, qui a bien résisté et a fini par guérir complètement. Les morts se sont produites aux 24e, 49e et 134e jours.

Les Singes n'ont pas eu de diarrhée banale.

La température normale chez les *M. inuus* subit d'assez fortes oscillations, ce qui nécessite une grande prudence dans l'interprétation des courbes obtenues. (Voir la courbe du Singe sain n° 32.)

La moitié des Singes infectés n'ont montré aucune élévation de température; ceux qui ont été inoculés sous la peau ont tous eu de la fièvre atteignant 40° après 2 ou 3 jours d'incu-

bation, et pendant 3 ou 4 jours seulement. Plus tard, certains avaient encore des poussées thermiques qui étaient peut-être des rechutes. (Voir les courbes des nos 25, 44, 48.) Chez le no 15, infecté par instillation de l'émulsion dans les culs-de-sac conjonctivaux, la fièvre s'est montrée 6 jours après l'instillation.

Le pouvoir agglutinant est apparu au moment de l'acmé thermique chez deux Singes (25 et 44) inoculés sous la peau, mais chez un troisième inoculé de même (no 48), le pouvoir agglutinant a été nul, bien qu'il y ait eu une courbe d'élévation thermique. Le même Singe fut réinoculé avec la même dose 18 jours après la 1re inoculation; deux jours après, son sérum commençait à agglutiner, mais il ne se produisit aucune élévation thermique.

Le pouvoir agglutinant, une fois établi, persiste encore après six mois sauf dans un cas : le Singe (8), contaminé par instillation dans les culs-de-sacs conjonctivaux le 27 septembre, a un sérum fort agglutinant le 10 octobre. Le pouvoir baisse vers le 5 novembre, est nul le 12 novembre, et remonte le 3 décembre.

Chez les *M. inuus*, le taux de l'agglutination ne dépassait pas, en général, le 1/500 (complète macroscopiquement en 24 heures). L'agglutination au 1/100 était parfois immédiate.

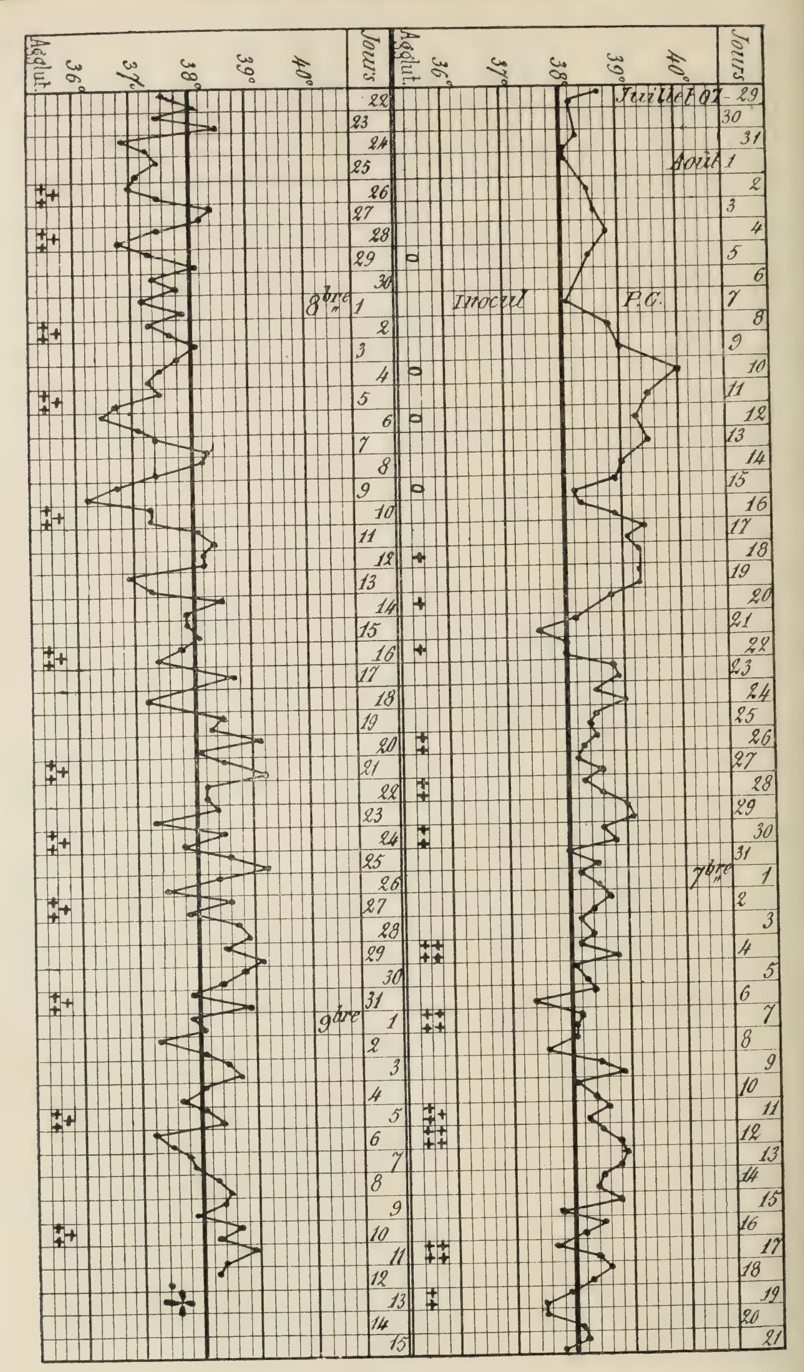
A aucun moment je n'ai pu isoler par culture le *M. melitensis* du sang ou des organes des *M. inuus*.

Il a été recherché, sans succès, dans le sang de la veine saphène, au moment de l'élévation thermique, dans les premiers jours de la maladie, avant et après l'apparition du pouvoir agglutinant. Il a été de même recherché en vain dans le sang du cœur de tous les Singes morts ou sacrifiés.

Il a été recherché dans tous les organes (en particulier dans les ganglions lymphatiques) de Singes sacrifiés aux 1er, 51e, 97e jours après l'infection.

Un Singe, en particulier, a été inoculé sous la peau, puis sacrifié 2 heures plus tard : il fut impossible de retrouver le *M. melitensis*, au lieu d'inoculation, dans le sang du cœur, dans la rate, les ganglions et les différents organes.

L'urine en particulier n'a jamais contenu le *M. melitensis*, dans les échantillons prélevés sur les Singes vivants ou sur les cadavres.



Courbe du singe n° 48.

C'est ce qui explique les résultats des expériences suivantes :

Singes infectés et sains se succédant journellement dans la même cage. — Les Singes n° 48, n° 25, infectés depuis le mois d'août, sont changés de cage tous les jours jusqu'au mois de décembre, et, dans leur cage salie, où l'on laisse les mangeoires souillées, les débris de nourriture et les ordures, sans aucun nettoyage, ils sont remplacés chaque jour par 2 Singes neufs, n°s 30 et 32, qui, en décembre, ne présentent encore aucun signe d'infection.

Singes infectés et sains, de même sexe, ou de sexe différent, cohabitant dans la même cage. — Dans une cage ont vécu ensemble 5 mois les 2 Singes mâles : 44, infecté depuis le mois d'août et PT, qui ne se contamine pas.

Dans une autre cage vivent pendant 5 mois aussi le Singe mâle (36 m.) ; le Singe femelle (36 f.) tous deux infectés, avec un Singe mâle sain (36 t.) qui ne se contamine pas.

Essais de contamination. — L'urine des *Macacus inuus* infectés ne contenant pas le *M. melitensis*, j'étais à l'abri des difficultés causées à la Commission de Malte par la bactériurie constante des *Macacus* dont elle se servait.

Les différents modes de contamination dont il a paru intéressant de rechercher le degré relatif de facilité ont été :

L'inoculation sous-cutanée ;

L'ingestion ;

Le contact par la peau ;

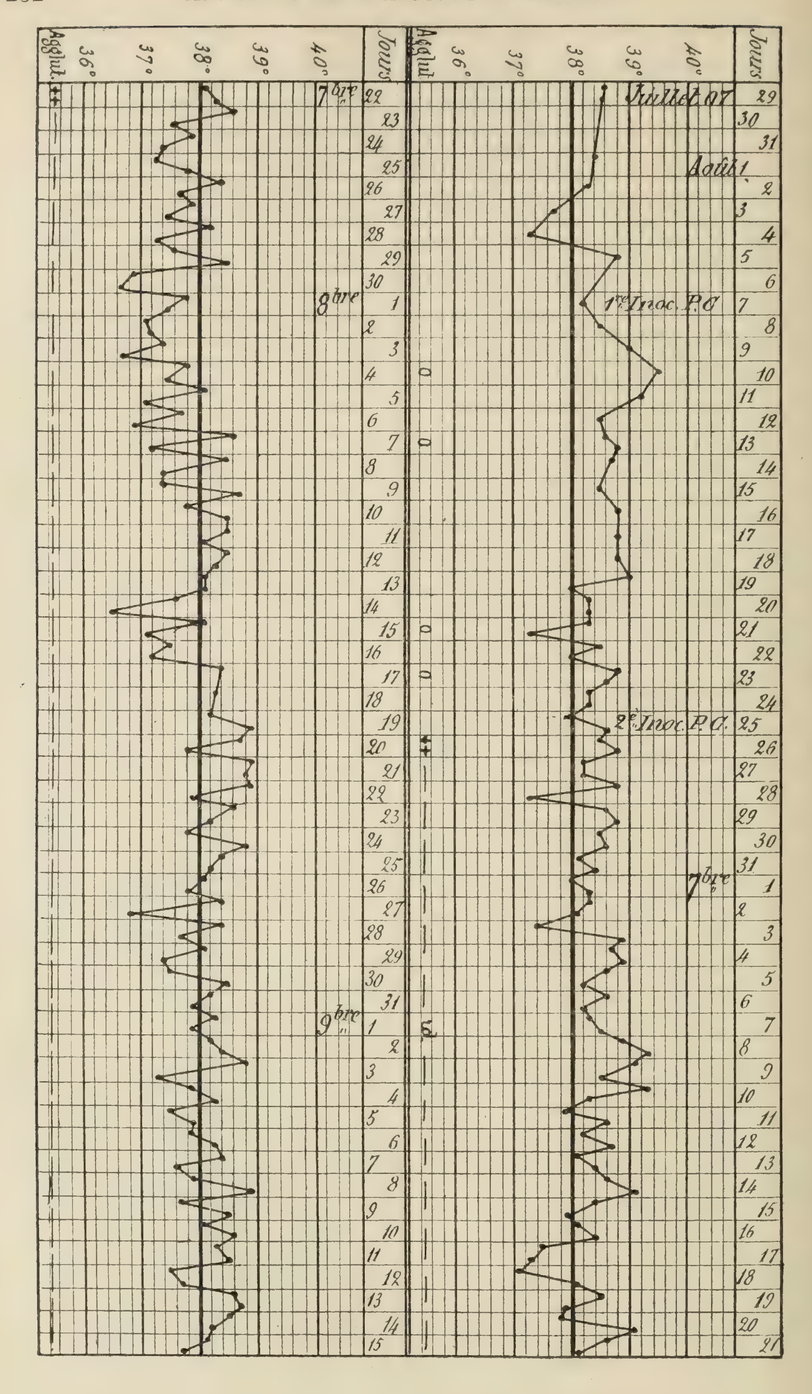
Le contact par les muqueuses.

Technique. — Le microbe employé était un *M. melitensis* isolé par Lemaire du sang périphérique d'un malade. On se servait de cultures sur gélose de 8 jours.

L'inoculation sous-cutanée se pratiquait sous la peau du ventre.

Pour l'ingestion, le Singe est maintenu par un aide à demi renversé en arrière, d'une main on appuie sur les molaires inférieures pour abaisser le maxillaire inférieur, et de l'autre main on fait tomber goutte à goutte l'émulsion de microbes dans l'arrière-bouche.

Pour amener le contact cutané, l'émulsion est versée sur la toile métallique de 2 centimètres d'ouverture de maille qui forme les 6 côtés de la cage, il n'en reste que quelques gouttes sur les fils de fer. Le fond grillagé de la cage est toujours à plu-



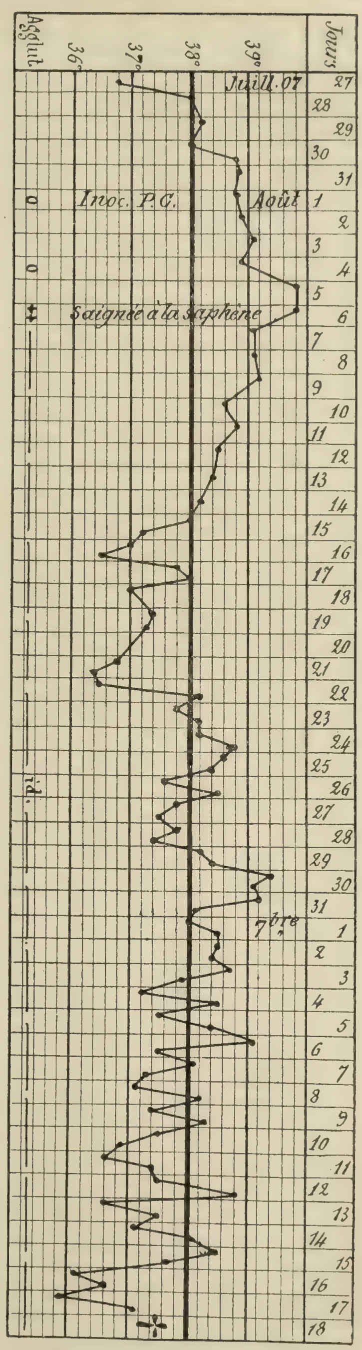
Agglut.
36°
37°
38°
39°
40°
Jours
7bre
8bre
9bre
Juillet 07
Août
1re Inoc. P.C.
2e Inoc. P.C.
7bre

sieurs centimètres du plateau dans lequel repose la cage sur des pieds métalliques. Les Singes étaient choisis indemnes de toute blessure apparente, on ne leur faisait pas de prise de sang avant l'expérience. La cage ainsi souillée était isolée des autres par des cloisons de tôle. On la laissait en l'état pendant 24 heures, sans donner de nourriture aux Singes. Puis la cage et le plateau étaient lavés au crésyl, les Singes douchés à l'eau crésylée; on les nourrissait ensuite, et l'on commençait à pratiquer les examens de sang.

Sur les muqueuses on laissait tomber l'émulsion goutte à goutte, en tenant la seringue à plusieurs centimètres de distance. Pour l'injection intravaginale et intrarectale, il était fait usage d'un tube de caoutchouc très mou pour ne pas éroder la muqueuse.

Les prises de sang pour la séroréaction étaient faites, comme chez l'homme, à la face dorsale des phalangettes.

Dans le tableau suivant, toutes les expériences de contamination figurant sur la même ligne horizontale ont été pratiquées avec la même dose de virus, donnée une seule fois. On remarquera que, dans les expériences dites « de contact par la peau », la quantité d'émulsion en contact avec la peau est bien plus faible que celle qui a été ingérée dans l'ex-



Courbe du singe n° 25.

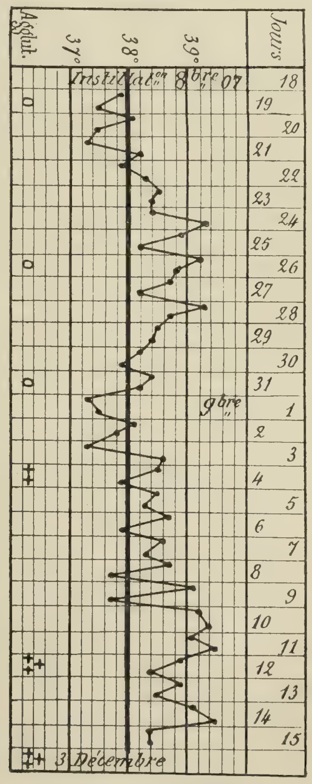
périence de comparaison dite « d'ingestion », le liquide versé sur la toile métallique coulant dans le plateau, tandis que *per buccam* pas une goutte n'était perdue. Le *Macacus inuus* étant un animal assez résistant à l'infection méditerranéenne, des doses assez fortes ont été employées (le raclage de plusieurs tubes de gélose chaque fois). On appelle temps d'incubation, dans le tableau suivant, le temps qui sépare le moment de la tentative d'infection, de celui où apparaît le pouvoir agglutinant dans le sérum. Ci-dessous, un zéro signifie : pas d'infection.

	Inoculation sous-cutanée.	Ingestion (muqueuse stomacale).	Contact cutané (cage souillée).	Contact des muqueuses. Conjonctive.	Muqueuse nasale.	Muqueuse génitale.	Muqueuse rectale.
1 août 07	(n° 25) 6 j.						
7 août	(n° 44) 3 j.	(n° 31) 24 j.	(n° 40) 19 j.				
13 août	—	(n° 21) 30 j.	(n° 36 m) 22 j.				
			(n° 36 f) 33 j.				
			(n° 36 l.) O				
27 sept.	—	(n° 12) O	—	(n° 10) 19 j.	(P.) 13 j.	(n° 8) 29 j.	(n° 11) 24 j.
18 oct.	—	(n° 3) 18 j.	—	(n° 7) 25 j.	(n° 15) 18 j.	(n° 17) 18 j.	
Moyennes	4 j. 5	24 j. 1 non-infection.	24 j. 6 1 non-infection.	22 j.	15 j. 5	23 j. 6	24 j.

Sans vouloir tirer de conclusions fermes d'un aussi petit nombre d'expériences, on peut cependant, étant donné les conditions propices à la comparaison où l'on s'est placé, remarquer que l'ingestion ne semble pas constituer un mode de pénétration plus facile que les autres modes pour le *M. melitensis*. Dans un cas, l'infection ne s'est pas faite, dans les 3 autres cas l'incubation a été aussi longue ou plus longue que dans les expériences par « contact des muqueuses », ou par « contact cutané ».

On peut remarquer encore que le contact d'une cage souillée pendant 24 heures a contaminé, 3 fois sur 4, des Singes en bon état, bien que les microbes qui sont restés en contact avec les parois de cette cage aient été bien moins nombreux que dans la dose ingérée de force en totalité.

Le contact se réduit en somme à une inoculation sous-cutanée, la peau et les muqueuses en continuité avec la peau étant sujettes à de multiples petites abrasions.



Courbe du singe n° 15.

CONCLUSIONS

On peut conclure des expériences ci-dessus, rapprochées de la fréquence avec laquelle les hommes de laboratoire s'infectent avec le *M. melitensis*, à la grande facilité de l'infection par simple contact.

Si l'on considère, d'autre part, que le réservoir de virus caprin est très réduit dans les localités étudiées, comme Alger et Arzew, qu'un certain nombre de cas qui y ont été relevés ne procèdent sûrement pas de l'ingestion de lait de Chèvre, on est amené à cette hypothèse que l'épidémiologie de la fièvre méditerranéenne est loin d'être univoque.

Dans le milieu militaire où ont été appliquées les conclusions prophylactiques de la Commission de Malte, le remplacement du lait de Chèvre par le lait condensé a presque fait disparaître la maladie. Mais c'est que ce milieu est spécial, isolé, et qu'à part la contamination par les prostituées (possible en certains cas), la plus grande cause d'infection des marins et des soldats par l'élément civil vient des matières alimentaires.

Pour la population civile, au contraire, le genre de vie favorise toute les formes de propagation du virus. Les quartiers misérables, où domine la fièvre méditerranéenne à Alger, sont ceux où les ruelles mal odorantes sont souillées d'urine du haut en bas. La malpropreté des logis et des gens réalise toutes les conditions de nos expériences de contact avec les Singes. Dans le milieu campagnard de Kléber, le contact forcé des animaux de ferme infectés, de leurs harnais, de leurs litières constitue, on peut l'admettre, une cause d'infection facile. On peut rappeler, à ce sujet, que les *Macacus* de la Commission de Malte s'infectaient d'une façon presque certaine si l'urine de Singes malades passait sous leur cage. L'infection naturelle des Chèvres elles-mêmes ne paraît pas se faire par l'ingestion de lait dans les premiers mois de leur vie, mais plutôt par le contact des mains au moment de la traite et peut-être par le contact de l'urine des Chèvres ou des chevriers infectés.

On peut conclure que la fièvre méditerranéenne semble être une enzootie des Chèvres de race maltaise, qui a rayonné hors de Malte (Gibraltar, Espagne, Italie, Afrique du Nord, Indes, Transvaal) à la suite des Anglais ou des Chèvres de race maltaise. Cette enzootie peut s'étendre à tous les animaux domestiques et à l'homme lui-même. L'excrétion des Microcoques par le lait (Femmes, Chèvres), ou par l'urine, entraîne deux modes principaux de contamination : par *l'ingestion* du lait, *par le contact* de l'urine (ou du lait), l'un ou l'autre de ces modes jouant le rôle le plus important, suivant le milieu.

Une Conception générale des anticorps et de leurs effets

3° Les anticorps normaux.

Par M. NICOLLE

Ce qui va suivre termine la série des études que nous avons consacrées aux anticorps, avec la collaboration des docteurs Pozerski et Abt.

INTRODUCTION

Dans notre premier travail, il a été admis que l'économie modifie les antigènes, grâce aux anticorps normaux qu'elle contient. On a considéré également comme hors de doute que ceux-ci représentent la source des anticorps artificiels, dont la création *ex nihilo* demeurait totalement incompréhensible. Enfin, on ajoutait : « Pareil phénomène (de différenciation) se manifeste sous des influences inconnues, au sein de l'organisme normal ; et c'est pourquoi, selon les espèces et les individus, les humeurs ou extraits cellulaires possèdent déjà, vis-à-vis de tels ou tels antigènes, une activité marquée, source de la résistance et de la sensibilité des sujets neufs. » On nous objectera, de suite, que le sérum d'un animal, réfractaire vis-à-vis d'une toxine ou d'un microbe donnés, peut être dénué des propriétés thérapeutiques attendues ; et, qu'inversement, ces propriétés ont été parfois rencontrées chez des espèces parfaitement sensibles. Nous répondrons à la première objection : 1° que *la résistance tient*, dans certains cas, *à un manque d'affinité pour les antigènes ;* 2° que, dans les autres cas, *on n'a point vu des anticorps qui existaient en réalité.* N'oublions pas que nos méthodes sont encore très imparfaites et que, par exemple, jusqu'à la découverte du procédé Bordet-Gengou, on était incapable de mettre les lysines en évidence, là où leur concentration demeure faible. N'oublions pas non plus qu'on a pu s'adresser avec succès aux cellules, lorsque l'examen des sérums restait négatif. Voici, pour le démontrer, deux exemples topiques, empruntés à Gengou : le sérum de cobaye ne dissout pas les hématies d'oie, les extraits leucocytaires les dissolvent — le plasma de

chien ne possède point d'action bactéricide sur le b. charbonneux, les extraits leucocytaires se montrent actifs. — Nous répondrons, *inversement*, à la seconde objection : 1° que *la sensibilité tient*, sans doute, dans certains des cas envisagés, *à une affinité exagérée des cellules pour les antigènes;* 2° que, dans les autres cas, *on a vu des anticorps qui n'existaient pas en réalité.* C'est-à-dire que l'effet observé doit être rapporté, suivant les circonstances, soit à un antigène, soit à un agent chimique, présents dans les sérums, et non point à un anticorps.— Et nous ajouterons qu'on n'était guère capable, jusqu'ici, d'orienter les recherches d'une manière bien précise, puisque, sur 6 types d'anticorps existants, on n'en connaissait que 4 et que le rôle respectif des coagulines et des lysines restait totalement insoupçonné.

Ceci posé, résumons ce que l'on sait actuellement, concernant les anticorps normaux et indiquons ensuite comment il est possible, avec nos idées, d'interpréter les phénomènes de résistance et de sensibilité naturelles.

ANTICORPS NORMAUX

Certains sérums jouissent de propriétés antitoxiques indéniables; d'autres manifestent une influence inverse (c'est ainsi que les sérums de chèvre et de lapin favorisent l'action de la toxine tétanique — Ricketts et Kirk). — Beaucoup de sérums précipitent les albuminoïdes, certains contiennent des albuminolysines (Wassermann et Bruck). — Faut-il insister sur le nombre considérable de cytotoxines naturelles aujourd'hui connues?

La concentration des anticorps normaux demeure souvent faible, avons-nous dit, au sein des humeurs; d'où une plus grande thermolabilité (considérée, à tort, comme caractéristique des soi-disant « opsonines » normales) et un moindre pouvoir fixateur, bien établis par les travaux de l'École d'Ehrlich.

RÉSISTANCE ET SENSIBILITÉ NATURELLES

L'existence d'anticorps normaux déjà spécialisés et leur identité avec les anticorps artificiels correspondants prouvent

clairement que, derrière les facteurs d'ordre général : espèce animale, âge, individu... qui semblent régir directement la résistance et la sensibilité naturelles, se cachent, dans la majorité des circonstances, de simples différences qualitatives et quantitatives de ces anticorps.

On a indiqué, lors du premier travail, comment il fallait concevoir le conflit des « *toxines solubles* » avec l'*organisme sensible*. Les toxines n'agissent sur l'économie que si celle-ci libère les poisons vrais qu'elles recèlent ; l'impossibilité de raccourcir le temps d'incubation au delà d'un certain minimum, quelle que soit la dose de poison brut introduite, confirmerait, s'il en était besoin, la théorie lytique que nous soutenons. — L'*organisme réfractaire* doit son état privilégié soit à l'absence de fixation de la toxine (comme l'a observé Metchnikoff, pour divers animaux inférieurs), soit à la libération excessivement lente du poison vrai (chez les grenouilles maintenues à 8° — Morgenroth), soit enfin, certainement, à un pouvoir coagulant très marqué (dans les autres cas). — Chez les espèces sensibles, les accidents consécutifs à l'administration des « toxines solubles » varient suivant le poison, sa quantité et son mode d'introduction. La toxine tétanique ne donne jamais de lésions locales (la plus grande partie du poison va aux centres nerveux ; le reste est détruit lentement par les éléments « non nobles ») ; la toxine diphtérique en détermine toujours avec les faibles doses et jamais avec les fortes (consommation de la lysine disponible et gène apportée à sa régénération du fait de l'empoisonnement). On connaît les divers types de tétanos : musculaire, splanchnique... On sait, enfin, que les toxines se manifestent localement, selon leur nature et leur activité, par des congestions, des œdèmes, des eschares (libération de plus en plus rapide du poison vrai, par les cellules « non nobles ») ; qu'au niveau des éléments nerveux leur présence donne lieu à des phénomènes d'excitation ou de paralysie ; et que les troubles qu'elles provoquent du côté de la nutrition générale affectent une allure plus ou moins vive et entraînent des conséquences plus ou moins graves, suivant les circonstances. — La résistance aux toxines peut être soit augmentée, soit diminuée, par l'injection de poisons ou de sérums « thérapeutiques » homologues

(« immunisation » active ou passive), de sérums neufs, de substances variées..., en vertu de mécanismes qui seront discutés, une fois pour toutes, à propos des microbes vivants.

L'immunité naturelle vis-à-vis des *albuminoïdes et des cellules « inoffensifs »* est due (couramment — car il y a, dans certains cas, absence de fixation ou d'englobement) à la prédominance des coagulines ; aussi le développement artificiel des lysines renverse-t-il les conditions normales et détermine-t-il des hypersensibilités quelquefois excessives. — L'étude de la maladie sérique nous a prouvé qu'un albuminoïde, non immédiatement toxique, peut le devenir au bout de plusieurs jours, s'il s'est formé de la lysine avant sa disparition totale. De même, pour les hématies non immédiatement « solubles » dans les humeurs. Si l'on injecte des globules rouges de bœuf au lapin, ils disparaîtront peu à peu, en 2-3 jours ; vers la fin, se produira une *crise* hémoglobinurique courte et intense, à la suite de laquelle la lysine spécifique, n'ayant plus d'hématies à détruire, s'accumulera progressivement dans les humeurs (Sachs).

La sensibilité aux *albuminoïdes et cellules « toxiques »* ne fait que traduire, objectivement, la lyse, si facile, des « endotoxines brutes » correspondantes. Le développement artificiel de coagulines intervertit les conditions normales ; mais l'immunité, obtenue presque toujours avec peine, offre rarement une intensité marquée.

Vis-à-vis des *microbes* (pathogènes) *vivants*, supposés réduits à leurs « endotoxines », la résistance et la sensibilité naturelles apparaissent encore comme intimement liées au jeu des coagulines et lysines normales. Chacun sait qu'il est des résistances absolues et des sensibilités extrêmes, de la part de telles ou telles espèces animales et vis-à-vis de tels ou tels germes ; les exemples abondent. La résistance absolue se manifeste par l'absence complète de tout symptôme morbide. Les microbes sont détruits « silencieusement », ce qui impose l'idée d'une prédominance des actes coagulants ; ils doivent donc être détruits avec une certaine lenteur (l'expérience montre, en effet, que les germes végétatifs et surtout les spores peuvent persister quelquefois assez longtemps au

sein de l'organisme naturellement immun). L'extrême sensibilité, qui ressortit en fin de compte à l'insuffisance numérique des deux sortes d'anticorps (les lysines conservant, cependant, une prédominance *relative*), se reconnaît au libre développement microbien, dont les conséquences varient pour chaque cas particulier. Entre les deux modes réceptifs opposés de l'économie, se placent tous les intermédiaires imaginables. — Dès que la résistance cesse d'être absolue, apparaît immédiatement l'intoxication, caractéristique de la dominance des lysines. Il n'y a que demi-mal, lorsque celles-ci demeurent assez abondantes et ne trouvent, devant elles, que des quantités modérées d'antigènes vivants. Ici s'applique, mieux encore qu'au cas des sujets « immunisés », la phrase suivante de notre communication à la Société de Biologie : « il faut s'empresser de reconnaître que les lysines rendent journellement des services[1] ». Si donc les microbes sont détruits après une courte phase de multiplication, l'empoisonnement, obligé, demeurera tolérable. Sinon, on assistera à une intoxication de plus en plus marquée et, à la limite, *les sujets pourront mourir guéris*. — Dès que la destruction des germes cesse d'être totale, tout est fini, dans les maladies aiguës ; dans les affections chroniques, au contraire, le conflit continue parfois très longtemps, voire indéfiniment (inutile de revenir sur ce sujet).

On change les conditions de la lutte entre l'organisme neuf et les microbes, en agissant sur le premier ou sur les seconds, (ou encore, naturellement, sur les deux). *Supposons la virulence constante*, puisque nous avons dit ne pas vouloir aborder, aujourd'hui, la question de l'adaptation microbienne ; et occupons-nous, d'abord, des moyens de modifier la *résistance des animaux*. On peut vaincre la sensibilité naturelle (quand elle existe, bien entendu), c'est-à-dire augmenter la résistance — ou vaincre l'immunité naturelle (quand elle n'est pas absolue), c'est-à-dire augmenter la sensibilité — en recourant : à l' « immunisation » soit active soit passive, comme nous le savons déjà ; à l'emploi des sérums normaux, des germes étrangers vivants et morts, des « toxines solubles », des substances « indifférentes » ; ou à

1. Dans la même communication, nous écrivions qu'il faut « s'efforcer de provoquer, selon les cas, la formation prédominante de coagulines ou de lysines ». Il va sans dire que la prédominance des lysines ne doit être considérée que comme un pis aller.

l'usage des agents chimiques, physiques, mécaniques. Il nous faut nous limiter à l'étude rapide de quelques-uns de ces moyens, si variés. — D'après ce qui a été dit antérieurement, les *sérums normaux* agissent en vertu d'un mécanisme qui n'est vraisemblablement point univoque, mais qui ressortit le plus souvent, croyons-nous, aux influences d'anticorps et surtout de coagulines (on n'oubliera pas, néanmoins, que les sérums peuvent jouer aussi un rôle néfaste, comme nous l'avons établi à propos de certaines expériences portant sur le bacille morveux). — Les *germes étrangers* se comportent de façon différente selon les circonstances. Tantôt, ils empêchent l'infection, grâce à une faculté antigène très marquée et s'exerçant parfois très vite, que double une faible toxicité (inoculation des mélanges : pneumobacille + b. charbonneux); tantôt, ils l'aggravent, pour des motifs opposés à ceux qui précèdent (histoire de toutes les infections mixtes). Plus un germe offrira de « parenté » avec un autre et plus il sera capable d'immuniser ou de sensibiliser vis-à-vis de lui. Il immunisera, lorsqu'il fera élaborer à l'organisme une somme d'anticorps supérieure à celle qu'il peut « consommer » (on conçoit donc qu'il doive être le moins toxique possible, sans quoi l'élaboration serait fatalement génée) ; il sensibilisera, dans le cas inverse. — Passons sur les *toxines solubles*, dont l'influence se montre toujours défavorable, ainsi qu'il fallait s'y attendre. — Les *substances*, dites *indifférentes* (expériences d'Issaëff), déterminent en réalité certaines lésions des éléments avec lesquels elles entrent en contact forcé et les produits intra-cellulaires, libérés lors du conflit, agissent vraisemblablement à la fois par les anticorps et les antigènes qu'ils contiennent. — L'étude des autres agents, et notamment des agents chimiques, nous entraînerait trop loin; elle sera faite ailleurs et plus tard.

Voyons, maintenant, comment on peut modifier les conditions de la lutte entre l'organisme et les microbes, en s'adressant à ces derniers. La virulence ayant été supposée immuable, restent la voie d'introduction et la dose. Nous avons insisté, à maintes reprises, sur l'importance du *mode d'administration* des antigènes au point de vue de la prédominance des phénomènes de lyse ou de coagulation; il nous faudrait donc nous répéter ici, besogne superflue. — Quant aux relations mutuelles de

la *dose* et de la virulence, elles ont été étudiées de très près dans notre travail sur la morve, auquel nous renvoyons le lecteur. Ajoutons que les germes morts, fatalement inoculés avec les germes vivants et en quantité d'autant plus grande que le virus administré est moins actif, favorisent l'infection à la manière des « mauvais » germes étrangers dont nous parlions tout à l'heure; mieux encore, puisque *homologues*. (Courmont avait entrevu, jadis, ce mécanisme.)

On ne s'étonnera pas que nous soyons excessivement bref au sujet des *effets de l'infection* (lesquels manifestent à nos yeux le degré de sensibilité *initiale et consécutive* des animaux, c'est-à-dire le bilan originel et les fluctuations ultérieures de leurs anticorps). Bornons-nous donc à rappeler l'extrême variété : des *lésions locales* (en rapport avec la vitesse de décoagulation des germes) — des *lésions à distance* (consécutives ou non à une lésion locale visible) — des *phénomènes généraux* (traduisant un retentissement plus ou moins étendu sur les divers appareils et la nutrition globale) — du *mode évolutif* (affections aiguës et chroniques ; irrégulières et cycliques ; crises ; rechutes ; terminaison mortelle; guérison, suivie ou non d'immunité, suivie ou non d'hypersensibilité, suivie à la fois d'immunité et hypersensibilité). Ces effets, si variés, de l'infection devront être méticuleusement analysés dans chaque cas particulier et, pour en expliquer la genèse, il faudra tenir compte non seulement des « endotoxines », mais encore des « toxines solubles » coexitantes.

Paris, septembre 1907.

L'AMERTUME DU LAIT ET DES FROMAGES

ÉTUDE D'UN CAS PARTICULIER

Par MM. A. TRILLAT et SAUTON

Avant d'aborder la partie expérimentale de notre sujet, il est utile d'exposer l'état actuel de la question, et de résumer les principaux travaux qui ont été faits sur l'amertume du lait.

La *première partie* de ce travail est donc consacrée à cette courte bibliographie; la *deuxième* comprendra notre étude expérimentale.

I

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Un nombre déjà considérable d'auteurs se sont occupés de l'amertume du lait. Les premières observations remontent assez loin, puisque Borrichius (*Coll. acad.*, p. 224) signale en 1766 le cas d'un lait de femme devenu amer, après ingestion d'absinthe.

Mais les premières observations sur l'amertume du lait. n'ayant pas une particularité d'alimentation comme origine, peuvent être attribuées à Pasteur (*C. R.*, LII, 1861) qui a indiqué que le lait bouilli devenait fréquemment amer quand on l'abandonnait à lui-même, pendant quelques heures.

Cette même observation a fait l'objet d'un travail de Naegeli (*Theorie der Gährungs München*, 1879, p. 103) qui attribue l'amertume du lait à l'action d'organismes résistant à la température de l'ébullition.

Duclaux (*Annales agronomiques*, 1878) a montré que le *Tyrothrix geniculatus* pouvait, en présence d'oxygène, produire dans le lait une substance amère.

Contrairement aux observations des précédents auteurs, Meissl (*Deutsch. Chem. Gesell.*, 1882, XV, 1259) attribue le phénomène, en dehors de toute action microbienne, à une altération de la caséine.

Lœw (*Deutsch. Chem. Gesell.*, 1882, XV, 1482), dans une critique du travail de Meissl, pense également que l'amertume du lait résulte d'une décomposition de la caséine; mais, selon

lui, cette altération est due à l'action de bactéries non détruites par le chauffage.

D'après Leibscher (*Wiener landw. Zeitung.*, 1883) l'amertume serait probablement attribuable à la présence d'une variété du *Proteus vulgaris*.

Dans son premier travail sur la question, Hueppe (*Mitt. a. d. k. Gesundheitsamt.*, 1879, p. 103) attribue le phénomène à l'action du *Bacillus butyricus*. Les expériences de Krugger (*Milchzeitung*, 1890, p. 349) et de Bleisch (*Zeitsch. f. Hygiène*, XIII, 1893, p. 81) semblent confirmer cette opinion.

Lœffler (*Berl. Klin. Wochenchr.*, 1887, p. 630) n'attribue pas, comme la plupart des auteurs déjà cités, l'amertume du lait à un microbe déterminé; mais il montre que divers organismes, produisant des peptones et de l'acide butyrique, peuvent la former.

Le bacille, isolé du lait doux par Weigmann (*Milchzeitung*, 1890, n° 38, p. 743) et qui communique au lait stérilisé un goût amer, n'appartient pas au groupe des microbes auxquels Lœffler attribue l'amertume; car il ne coagule pas le lait et ne peptonise pas la caséine. Le microcoque isolé par Conn (*Centralbl. f. Bakter*, IX, 1891, p. 252) d'un échantillon de crème amer, coagule au contraire le lait, avec formation d'acide butyrique.

D'après Girard (*Journ. d'agr. prat.*, 1891, p. 489), dont l'observation confirme celle déjà citée de Borrichius, l'amertume immédiate du lait résulte de l'ingestion de certains aliments (absinthe, aloës, gentiane etc.,) par la vache. Elle se développe parfois, par une cause inconnue, seulement plusieurs heures après la traite. Girard fait observer que la saveur de ce lait est douce, avec un arrière-goût amer. Le fait se produit surtout dans les étables mal tenues.

Freudenreich (*Annales de Microg.*, VII, 1895, p. 1), signale également, dans un important travail sur la question, l'influence de l'alimentation; mais il insiste surtout sur les causes d'origine microbienne. Il montre qu'un grand nombre de bactéries sont susceptibles de produire le phénomène et il décrit sous le nom de *Micrococcus casei amari*, un nouveau microbe isolé d'un fromage de Berne, provoquant l'amertume du lait en 48 heures, à 37°. Cet organisme, à la fois producteur d'acides

et liquéfiant la gélatine, forme dans le lait des peptones, substances également produites par d'autres microbes du lait amer. Freudenreich a fait, sur la nature de la substance amère de ce lait, de très intéressantes observations. En outre, il a isolé de la crème un autre microbe, le *Bacillus liquefaciens lactis amari*, qui communique au fromage frais une saveur amère.

Dammann (*Centralbl. f. Bakter.* 1897, p. 258) signale un cas de lait amer, qu'une extrême propreté dans la tenue de l'étable et des soins minutieux à la traite, ont fait disparaître. Le lait amer était pauvre en matière grasse; il en fallait 18 litres pour faire une livre de beurre, tandis que 14 litres de lait normal suffisaient. Aussi l'auteur attire-t-il l'attention sur l'importance pratique de l'amertume du lait.

O'Collaghan (*New-South. Wales Agr. Gaz.*, vol. X, p, 882, 1899) donne le nom de *Saccharomyces lactis* à une levure conférant au lait un goût piquant, amer, avec production d'alcool. Il ne décrit pas cet organisme, dont le nom avait déjà été donné par d'autres auteurs à d'autres levures du lait ou du képhir.

La formation de l'amertume par un organisme producteur d'alcool a été également signalée par Harrison. (*Revue générale du lait*, 1902, p. 457) qui a décrit, sous le nom de *Torula amara*, un ferment actif du lactose, provoquant en 6 heures à 37°, l'amertume du lait stérile. Il a isolé cet organisme de centaines d'échantillons de fromages et de lait, de bidons ayant contenu du petit lait... etc., dans une étable très mal tenue.

***

Attribuant l'amertume à une cause tout à fait différente de celles invoquées par les précédents auteurs, Ottomar Henzold (*Milchzeitung*. 1902, n° 52), fait intervenir l'action de l'oxyde de fer contenu dans le sel marin employé, pour expliquer l'amertume de certains beurres.

Hesse (*Molkereizeitung*, 1906, n° 11) rejette cette explication de l'amertume du beurre. Pourtant il admet que la présence de sels de fer, dans les récipients rouillés, peut provoquer cette saveur dans le lait, par suite de la formation de lactate de fer. Il cite certaines autres causes, déjà connues d'amertume du lait (alimentation, âge de la vache, action des microbes... etc.), et il montre que, contrairement à l'avis de

certains auteurs, l'acide butyrique ne peut pas communiquer au lait le goût amer.

Steinegger (*Molkereizeitung*, 1906, XX, n° 1) tient pour insignifiante l'influence de l'alimentation de la vache sur l'amertume du lait et c'est plutôt aux affections de la mamelle qu'il attribue le phénomène. Le lait amer peut être produit par les quatre quartiers de la mamelle ou par un seul ou par plusieurs ; la mastite semble en être la cause la plus fréquente. Ce lait présente une composition anormale, ainsi que cela résulte des analyses de Steinegger et Allemann (*Revue gén. du lait*, 1905, p. 115).

On sait que certaines solutions de peptones possèdent un arrière-goût amer et peuvent être engendrées par quelques bactéries. Partant de cette observation, plusieurs savants font intervenir la formation de peptones pour expliquer l'amertume.

C'est ainsi que dans son second travail sur le lait amer, Hueppe (*Berl. Klin. Wochenschr.*, 1891, p. 717) attribue le phénomène à la production de peptones et, à l'appui de cette opinion, il cite le fait que toutes les bactéries isolées des laits amers sont des espèces peptonisantes, liquéfiant la gélatine.

Bondzinski (*Ann. de Mikrog.*, VII, 1895, p. 11) a trouvé 0,8 0/0 de peptones dans un lait ensemencé par le *Micrococcus casei amari*. Nous citerons encore le bacille de la pomme de terre et le *Bacillus liquefaciens casei amari* qui, cultivés dans le lait, y forment des peptones.

Il nous paraît donc hors de doute que la présence de ces substances peut accompagner celle de l'amertume.

Mais l'amertume n'est pas liée à la présence des peptones.

On rencontre, en effet, des laits très amers ne donnant aucune réaction de ces produits. Par contre, des laits riches en peptones ne présentent aucun goût amer. Ainsi, des bactéries, comme le *Proteus vulgaris*, forment des peptones dans le lait, sans le rendre amer.

On peut d'ailleurs, dans certains cas, constater dans le lait la présence de substances amères, qui ne sont pas des peptones. Qu'il nous suffise, à l'appui de cette thèse, de citer l'expérience de Freudenreich qui, d'un lait, ensemencé avec son *Micrococcus casei amari*, a isolé un résidu amer, ne conte-

nant pas trace de peptones, mais des substances analogues au caramel.

***

De l'ensemble de ces travaux, on peut conclure que l'amertume du lait résulte soit d'un état particulier de l'animal qui le produit, soit d'une action microbienne.

Dans le premier cas, elle est perceptible immédiatement après la traite et peut être produite par différentes causes, telles que l'ingestion de certains aliments, l'âge de l'animal, une lactation avancée et surtout certaines affections de la mamelle.

Dans le deuxième cas, c'est-à-dire quand elle est due à une action microbienne, la saveur amère ne se développe dans le lait que plusieurs heures après la traite. Elle peut résulter de l'action d'organismes très différents. Il n'y a donc pas, à proprement parler, un groupe spécial de « bactéries du lait amer » comme il existe un groupe de ferments lactiques, et l'amertume du lait n'est pas un processus spécifique complètement à part.

La notion qui se dégage dès maintenant, à la suite de cette étude bibliographique de la question, est que l'amertume du lait se produit dans un grand nombre de cas, par des causes très différentes et diversement interprétées. Nous verrons plus loin qu'il est possible de rattacher certaines d'entre elles à une même origine et que plusieurs observations des auteurs cadrent avec nos résultats.

Nous ne séparerons pas, dans notre étude, l'amertume du lait de celle du fromage, les deux phénomènes ayant d'étroits rapports entre eux.

II

PARTIE EXPÉRIMENTALE

En examinant un grand nombre d'échantillons de laits amers, nous avons reconnu qu'ils se différenciaient nettement des échantillons de laits normaux en ce que leur distillat fournissait les réactions communes aux aldéhydes et qu'on y pouvait déceler la présence de l'ammoniaque. Ces observations ont

été la base de notre travail expérimental que nous exposerons de la manière suivante :

A. Recherche et dosage des aldéhydes dans les laits et les fromages amers;

B. Origine des aldéhydes dans les laits et les fromages amers.

C. Reproduction artificielle de l'amertume par ensemencement approprié.

A. *Recherche et dosage des aldéhydes dans les laits et les fromages amers.*

Choix d'une méthode. — Le choix d'une méthode de dosage des aldéhydes appropriée à nos essais a fait de notre part l'objet d'une étude attentive. Les trois procédés les plus actuellement suivis sont les suivants : le procédé à la rosaniline bisulfitée, celui au chlorhydrate de métaphénylène-diamine de Bela de Bitto ; enfin celui de Barbet et Jandrier à l'hydroquinone. Tous trois reposent sur des évaluations colorimétriques.

La méthode au chlorhydrate de métaphénylène-diamine ne nous a pas paru assez sensible; quant à celle de Barbet et Jandrier, très recommandable pour le dosage des aldéhydes dans les liqueurs alcooliques, nous avons reconnu qu'elle devenait défectueuse en présence de sels ammoniacaux dont l'entraînement risque de se produire au cours des distillations et peut colorer la solution d'hydroquinone utilisée pour le dosage.

Nous avons donc eu recours à l'ancien procédé au bisulfite de rosaniline malgré ses imperfections. Il est en effet basé sur une réaction commune à un grand nombre d'aldéhydes et à leurs dérivés comme les acétals; sa sensibilité varie d'une aldéhyde à l'autre; la coloration obtenue n'est pas proportionnelle à la quantité d'aldéhydes; enfin elle est influencée par la température, la durée de contact et le titre alcoolique des solutions. De là, les différences considérables dans les évaluations selon les auteurs; aussi estimons-nous nécessaire de décrire le mode opératoire suivi quand il s'agit de dosages d'aldéhydes.

Tout d'abord nous nous sommes assurés, une fois pour toutes, que la réaction aldéhydique de nos liqueurs distillées était bien

due, pour la plus grande partie, à la présence de l'aldéhyde acétique.

En effet, en les traitant par de la diméthylaniline suivant un mode opératoire déjà décrit par l'un de nous [1], nous avons pu isoler un corps bien cristallisé fondant à 70° et que nous avons identifié avec le dérivé tétraméthylé du diphényléthane :

$$C^2H^4\left[C^6H^4Az<^{CH^3}_{CH^3}\right]^2$$

qui ne peut être formé que par l'aldéhyde acétique.

Nous nous sommes attachés à faire les comparaisons colorimétriques entre des solutions de même concentration. Dans ce but, nous avons commencé par déterminer approximativement les doses d'aldéhydes contenues dans les laits et les fromages amers, ce qui nous a permis, après quelques tâtonnements, de faire des solutions types d'un titre voisin des liquides aldéhydiques extraits de ces laits ou de ces fromages. Les solutions titrées étaient nouvellement préparées, pour chaque série d'essais, en dissolvant les quantités d'aldéhydate d'ammoniaque correspondantes.

Enfin dans quelques cas particuliers, nous avons effectué les distillations de nos liquides dans un courant d'acide carbonique, pour éviter l'oxydation des traces d'alcool qu'ils contenaient.

Recherche des aldéhydes dans les laits amers. — Nos essais ont porté sur des laits rencontrés amers ou rendus amers par ensemencement avec le *Bacillus subtilis*, auquel on attribue l'amertume fréquente du lait bouilli, ou le *Bacillus lactis amari* de Freudenreich. Après un séjour de deux à trois jours à l'étuve à 30°, ces laits ont été traités de la manière suivante pour la recherche des aldéhydes.

Mode opératoire. — 50 c. c. de lait, étendus de leur volume d'eau distillée sont légèrement acidifiés par l'acide sulfurique au 1/10 cette addition d'acide est surtout nécessaire quand on opère comme nous le verrons plus loin sur un fromage alcalin dans lequel l'aldéhyde se trouve à l'état d'aldéhydate d'ammoniaque. On recueille par distillation la moitié du liquide, en ayant soin d'entourer le réfrigérant de glace et de recueillir le distillat par un tube effilé dans un flacon refroidi par un mélange de

1. *Bulletin de la Société chimique* 1900, p. 18.

glace et de sel marin pour éviter toute perte d'aldéhydes. On procède alors au dosage par la méthode colorimétrique.

On a eu soin, dans tous ces essais, d'opérer comparativement avec des laits non amers, dans des conditions rigoureusement identiques. Les laits ensemencés ont toujours donné, contrairement aux laits témoins, la réaction des aldéhydes.

Recherche de l'ammoniaque. — Nous avons recherché la présence de l'ammoniaque dans ces laits amers, en utilisant la méthode à l'iodure d'azote, que nous avons décrite dans un travail précédent [1]. Nous rappellerons que notre procédé consiste à traiter par un lait de chaux, le lait préalablement déféqué par le trichlorure d'iode. La formation d'une abondante coloration noire, due à l'iodure d'azote produit dans la réaction, est caractéristique de traces d'ammoniaque.

Le tableau suivant résume les résultats qualitatifs obtenus dans la recherche des aldéhydes et de l'ammoniaque dans six expériences comparatives.

I

TABLEAU INDIQUANT LA PRÉSENCE SIMULTANÉE D'ALDÉHYDES ET D'AMMONIAQUE DANS LES LAITS AMERS [2]

	Aldéhydes.	Ammoniaque.
I. Lait témoin stérilisé	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. subtilis*)	Présence.	Présence.
II. Lait témoin (stérilisé)	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. subtilis*)	Présence.	Présence.
III. Lait témoin stérilisé	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. subtilis*)	Présence.	Présence.
IV. Lait témoin stérilisé	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. lactis amari*)	Présence.	Présence.
V. Lait témoin stérilisé	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. lactis amari*)	Présence.	Présence.
VI. Lait témoin stérilisé	Néant.	Néant.
Lait amer (*B. lactis amari*)	Présence.	Présence.

1. *Annales de l'Institut Pasteur.* Août 1905.
2. Il aurait été intéressant de rechercher si la *Torula amara* de Harrison, qui produit l'amertume et est en même temps un ferment du lactose formait, dans le lait, de l'aldéhyde et de l'ammoniaque. Malheureusement, l'auteur lui-même n'a pu nous procurer cet organisme.

Recherche des aldéhydes dans les fromages amers. — La recherche des aldéhydes nous a donné des résultats encore plus nets que ceux obtenus avec les laits amers. Elle a été effectuée en opérant sur 200 grammes de fromages délayés dans 200 c. c. d'eau distillée et additionnés de 20 c. c. d'acide sulfurique au 1/10 pour décomposer l'aldéhydate d'ammoniaque, forme sous laquelle l'aldéhyde se trouve dans les fromages alcalins. Cette addition d'acide a en outre pour but de régénérer l'aldéhyde des diverses combinaisons où elle est engagée et qui, jointe à l'action des levures, expliquent la diminution facile à constater, à la longue, de l'aldéhyde libre. On distille 50 c. c. de liquide en prenant les précautions indiquées pour le lait et on procède au dosage. Voici quelques résultats se rapportant à des fromages bruts, humidité non déduite.

II

TABLEAU INDIQUANT LES DOSES D'ALDÉHYDES CONTENUES DANS QUELQUES FROMAGES

Nature du fromage.	Aldéhydes évaluées en aldéhyde acétique 0/00	Nature du fromage.	Aldéhydes évaluées en aldéhyde acétique 0/00.
Caillé frais.......	Néant.	Gervais..........	Néant.
Brie.............	12 mgr.	Gorgonzola.......	29 mgr.
Hollande.........	Traces.	Septmoncel......	20 mgr.
Camembert......	Traces.	Montbrison......	17 mgr.
Roquefort,.......	27 mgr.	Port-Salut........	Traces.
Gruyère.........	Traces.	Fourme d'Ambert.	27 mgr.

B. Origine des aldéhydes dans les laits et les fromages amers.

La présence des aldéhydes dans les laits et fromages pourrait tout d'abord s'expliquer par la formation d'une petite quantité d'alcool provenant du lactose retenu dans le caillé. L'alcool peut en effet s'oxyder sous des influences extrêmement variées et fournir de petites quantités d'aldéhyde [1].

On sait que certaines levures sont susceptibles de faire fer-

1. TRILLAT, *C. R. de l'Acad. d. Sc.*, 1903.

menter le lactose en produisant de l'alcool. Duclaux (*Annales de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 573) a signalé une levure susceptible de faire fermenter la totalité du sucre du lait. Adametz (*Centralbl. f. Bakter.* V. 1889, p. 116) a décrit sous le nom de *Saccharomyces lactis* un organisme analogue. D'autres levures ont été décrites par Kayser (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V. 1891, p. 395), Grotenfeld, Weigmann,... etc. Beijerinck en a isolé une du képhir et une autre du fromage d'Edam. Une nouvelle levure de lactose, distincte des précédentes par certains caractères biologiques et morphologiques, a été isolée du fromage de Grana par Boccichio, sous le nom de *Lactomyces inflans casei grana*. Nous avons cité plus haut la *Torula amara* de Harrison. Signalons encore le *Saccharomyces fragilis* de Jorgensen (*Mikroorg. d. Gährungs*, 1898, p. 822) qui semblerait être le seul véritable Saccharomyces faisant fermenter le lactose.

Mazé (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XVIII, 1903, p. 11) est parvenu plus récemment à isoler de divers fromages toute une variété de ces levures. Il a montré qu'elles sont abondamment répandues dans les laiteries et qu'on en rencontre dans un très grand nombre de fromages, où elles forment, aux dépens du lactose toujours retenu partiellement dans le caillé, de petites proportions d'alcool. Il a observé, ce qu'il est utile de faire remarquer ici, que les milieux alcalins favorisaient cette formation d'alcool, qui peut atteindre 4 à 5 0/0 du poids du lactose mis en expérience.

Nous voyons donc que l'alcool peut se produire dans un grand nombre de cas sous l'influence des levures : la présence de l'aldéhyde acétique peut déjà être expliquée *a priori* par l'oxydation de cet alcool sous de simples influences de contact, la levure elle-même pouvant jouer le rôle d'agent de contact par sa grande division. Peut-être est-ce à ce phénomène qu'on doit attribuer la formation constante d'aldéhyde en admettant même qu'elle serve d'aliment aux levures.

A l'appui de cette opinion, c'est le cas de citer ici le travail de Rœser qui a reconnu qu'un certain nombre de levures de vin ensemencées dans des moûts stériles produisaient des quantités plus ou moins notables d'aldéhydes [1].

Essais. — Les levures de lactose nous semblaient tout indi-

1. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1893, p. 41.

quées pour nous permettre d'examiner expérimentalement la question que nous venons de poser.

Nous avons donc ensemencé une série de flacons contenant les uns, du liquide Raulin lactosé et les autres, du lait stérilisé avec un certain nombre de levures retirées des fromages. Comparativement à ces essais, d'autres flacons contenant les mêmes liquides non ensemencés furent simplement additionnés d'alcool, afin d'évaluer la part d'aldéhydes provenant de l'oxydation de l'alcool au cours des manipulations. Après une semaine d'exposition dans l'étuve à 30° on a procédé au dosage des aldéhydes, par la méthode colorimétrique au bisulfite de rosaniline.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

III

TABLEAU INDIQUANT LES DOSES D'ALDÉHYDES PRODUITES SOUS L'INFLUENCE DES LEVURES

Origine de la levure.	Aldéhydes 0/00 évaluées en aldéhyde acétique.			
	Liquide Raulin lactosé.	Lait stérilisé.		
		I.	II.	III.
Mont-d'Or	Traces.	35 mgr.	39 mgr.	35 mgr.
Coulommiers	Traces.	37 mgr.	39 mgr.	36 mgr.
Pont-l'Evêque	66 mgr.	20 mgr.	23 mgr.	22 mgr.
Neufchâtel	84 mgr.	35 mgr.	37 mgr.	38 mgr.
Camembert	80 mgr.	42 mgr.	44 mgr.	42 mgr.
Témoins alcoolisés	Traces.	traces.	traces.	traces.

La fermentation du lactose sous l'influence de ces levures, fournit donc des aldéhydes en proportions variables, selon la race de levure ensemencée et la part d'aldéhydes provenant de l'oxydation de l'alcool au cours des manipulations est négligeable dans ces expériences.

Les expériences qui viennent d'être relatées établissent que l'aldéhyde acétique se trouve en plus grande proportion quand il y a présence de levures : d'autres expériences, comparatives non relatées ici, nous ont donné des résultats plus marqués. On

serait donc tout naturellement tenté d'attribuer à l'activité même de la levure cet excès d'aldéhyde et de rattacher sa présence au phénomène même de la fermentation, partageant ainsi l'hypothèse autrefois émise par Schützenberger et Destrem.

Mais cette opinion peut être controversée : l'excès d'aldéhyde que nous avons constaté est lié, à coup sûr, à la présence des levures qui pourraient être envisagées comme agents catalytiques par leur grande surface, ou comme agent d'oxydation par les éléments minéraux qu'elles contiennent [1].

Origine de l'ammoniaque. — L'origine de l'ammoniaque dans le lait est expliquée par l'ensemencement de certains microbes, comme le *M. ureæ*, les Tyrothrix, etc... L'ammoniaque peut être décelée, avant sa coagulation, en proportions notables, comme l'indiquent les tableaux suivants :

IV

TABLEAU INDIQUANT LES DOSES D'AMMONIAQUE FORMÉES DANS LE LAIT PAR QUELQUES MICROBES

Observations après :	Témoins.	*Micrococcus ureæ.*	*Tyrothrix tenuis.*	*Tyrothrix filiformis.*
4 heures.	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
8 —	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
16 —	Néant.	Traces.	Néant.	Néant.
24 —	Néant.	25 mgr. 0/00	Néant.	Néant.
36 —	Néant.	33 —	20 mgr. 0/00.	20 mgr. 0/00.
72 —	Néant.	50 —	25 —	25 —

De même, le lait ensemencé accidentellement par de l'eau d'égout, de l'urine, ou des produits de décomposition peut devenir ammoniacal. Exemple :

1. ALILAIRE, *C. R. de l'Acad. d. Sc.*, 1906, p. 176 et 1907, p. 1215.

V

Observations après :	Témoin.	Bacilles de l'eau d'égout.	Urine putréfiée.	Bacilles du jus de viande décomposée.
4 heures.	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
8 —	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
16 —	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
24 —	Néant.	16 mgr. 0/00.	20 mgr. 0/00.	20 mgr. 0/00.
36 —	Néant.	25 —	22 —	22 —
72 —	Néant.	30 —	33 —	25 —

Enfin, d'autres causes d'origine non microbienne peuvent encore expliquer la présence de l'ammoniaque dans le lait, telles sont par exemple la sueur tombant accidentellement dans le lait, la contamination par l'urine, ou simplement par les vapeurs ammoniacales qui se trouvent toujours répandues dans l'atmosphère d'une étable mal tenue,... etc.

***

La connaissance de ces résultats nous a donné d'utiles indications pour essayer de reproduire artificiellement l'amertume qui doit compléter notre démonstration.

C. *Reproduction artificielle de l'amertume.*

Il était tout indiqué de chercher à reproduire l'amertume dans le lait en y provoquant, par un ensemencement approprié, la formation simultanée d'aldéhydes et d'ammoniaque.

A cet effet, des flacons contenant du lait stérilisé ont été ensemencés en même temps et séparément comme essais de contrôle par des levures de lactose et des bacilles de Flügge, la première fournissait de l'aldéhyde et les deuxièmes de l'ammoniaque.

Un séjour de 2 à 5 jours à l'étuve à 30° a suffi pour développer dans les milieux un goût extrêmement prononcé et persistant d'amertume. Par contre les laits ensemencés séparément par les levures ou les ferments ammoniacaux ne sont pas devenus amers.

Le tableau suivant résume les expériences.

VI

ENSEMENCEMENT SÉPARÉ PAR UNE LEVURE PRODUISANT DE L'ALDÉHYDE

Levures seules.	Amertume.	Aldéhydes 0/00.	Ammoniaque 0/00.
Camembert..........	Néant.	45 mgr.	Néant.
Camembert...........	Néant.	42 mgr.	Néant.
Coulommiers.........	Néant.	37 mgr.	Néant.
Mont-d'Or............	Néant.	35 mgr.	Néant.

VII

ENSEMENCEMENT SÉPARÉ PAR UN FERMENT AMMONIACAL

Ferment ammoniacal.			
B. Flügge V.........	Néant.	Néant.	23 mgr.
Tyrothrix............	Néant.	Néant.	Présence.

VIII

ENSEMENCEMENT SIMULTANÉ PAR UNE LEVURE ET PAR UN FERMENT AMMONIACAL

Ensemencement de levures et du B. Flügge V.			
Camembert + Flügge V.	très amer.	45 mgr.	25 mgr.
Camembert + Flügge V.	très amer.	40 mgr.	23 mgr.
Coulommiers+Flügge V.	très amer.	37 mgr.	22 mgr.
Mont-d'Or + Flügge V..	très amer.	35 mgr.	23 mgr.

Nous avons aussi reproduit l'amertume en ensemençant des Tyrothrix comme ferments ammoniacaux, en même temps que des levures de lactose. Dans ce cas, moins net que par celui du B. Flügge, l'amertume très fugace est souvent masquée par la formation de divers produits de décomposition.

Les résultats de l'ensemble de nos expériences démontrent donc nettement :

1° Que les laits ensemencés avec les levures de lactose produisant de l'aldéhyde n'ont pas donné d'amertume (Tableau VI);

2° Que l'amertume n'est pas produite dans les laits ensemencés avec les ferments ammoniacaux (Tableau VII);

3° Que la réunion des deux ensemencements a au contraire provoqué la formation de l'amertume (Tableau VIII).

On peut se demander maintenant, pour les cas spéciaux que nous avons examinés, quel est le mécanisme de la formation de la substance amère dans les laits qui contiennent à la fois de l'aldéhyde et de l'ammoniaque. Ce phénomène de l'amertume est-il lié directement à la présence de ces corps ou peut-il être considéré comme un phénomène connexe ou un épiphénomène?

Nos essais ne nous donnent que des probabilités et il serait intéressant que des observations plus générales viennent confirmer les nôtres.

Nous pouvons cependant déjà donner, quoique sous réserves, une explication très acceptable de la formation de l'amertume en partant de l'aldéhyde et de l'ammoniaque.

En effet la solution même très étendue d'aldéhyde et d'ammoniaque a la propriété de s'altérer en donnant une substance résinoïde douée d'un goût excessivement amer, facilement reconnaissable à une dose de 1/100.000 Cette résinification spéciale de l'aldéhyde se produit de préférence en milieu très légèrement alcalin. Mais nous avons reconnu que sous certaines conditions, les solutions très étendues d'aldéhyde acétique en solution neutre ou même acide pouvaient également, à la longue, donner des produits très amers.

La rapidité de cette formation d'amertume et son intensité varient beaucoup, d'une part avec la nature de l'aldéhyde (nous nous en sommes assurés) et d'autre part avec celle de l'alcali ou du composé alcalin.

On ne saurait comparer l'amertume obtenue par voie d'ensemencement par des germes produisant de l'aldéhyde acétique et de l'ammoniaque avec l'amertume fugace produite par l'addition directe de ces deux corps à du lait frais. On peut répondre à cette objection que les conditions de la formation d'aldéhydes et d'ammoniaque par voie microbienne sont différentes. Pour le fromage, qui est un produit ammoniacal, les résultats sont

plus nets, lorsqu'on le soumet à l'action de vapeurs d'aldéhydes. Il suffit d'exposer des tranches de gruyère sous une cloche contenant des traces d'aldéhydes pour provoquer l'amertume.

Partant des données acquises, nos résultats permettent de prévoir quelques cas de production d'amertume du lait et du fromage. Il y aura formation probable d'amertume, par exemple, par ensemencement accidentel du lait par un germe unique produisant à la fois ces deux substances ; c'est le cas du *Bacillus subtilis* signalé par Naegeli et celui du *Bacillus lactis amari* signalé par Freudenreich.

Le lait pourra devenir amer chaque fois qu'ayant été ensemencé par une levure de lactose, une deuxième circonstance aura donné lieu à la formation d'ammoniaque. Il en est de même pour les fromages qui retiennent toujours, au moment de l'emprésurage, une certaine quantité de lactose. Une fois égouttés ils sont suceptibles de servir de réceptable aux levures de lactose abondamment répandues dans les laiteries.

Les quantités d'aldéhydes produites dans les laits et les fromages dépendent d'une foule de circonstances, telles que la nature de la levure, l'importance de l'ensemencement, l'exposition à la lumière et l'aération. On comprend que l'assemblage de ces divers facteurs ou leur superposition peuvent présenter, par leur réunion, des conditions très favorables pour la production d'aldéhydes. Tel est le cas, par exemple, lorsque le caillé aura été préparé à trop basse température, retenant ainsi une plus grande quantité de lactose, ou qu'il aura été trop longtemps conservé, avant sa mise en moule, dans l'atmosphère riche en germes des salles des fromageries.

On peut dès maintenant, sans risquer de se tromper, affirmer qu'un plus grand soin apporté à l'égouttage du caillé et une plus grande propreté dans la tenue de la laiterie, diminueraient notablement ces risques.

Cette conclusion confirme d'ailleurs les observations de quelques auteurs, Girard, Dammann, Harrison, etc., qui ont indiqué que le lait amer provenait généralement d'étables malpropres [1].

1. De nouvelles expériences, faites depuis ce travail, ont confirmé pleinement les hypothèses que nous venons d'émettre sur la formation et la disparition constantes de l'aldéhyde sous l'action des levures.

Contribution à l'Étude microbiologique et expérimentale du Pian

PAR MM.

C. LEVADITI ET L. NATTAN-LARRIER

(Avec les Pl. III et IV).

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

L'un d'entre nous a eu l'occasion d'observer pendant plus de 5 mois, un sujet blanc, qui, durant un séjour dans la région du Haut-Congo, aux sources de l'Alima, avait contracté le Pian. Ce cas nous a permis d'entreprendre une série de recherches microbiologiques et histo-pathologiques et d'apporter une contribution à l'étude expérimentale de cette maladie.

***

Malgré les recherches de Eijkman, Pierez, Powell, Nicholls et Watts, l'agent pathogène du Pian était encore inconnu en février 1905, lorsque *Castellani*[1] découvrit un spirochète sur les frottis de la sérosité qui s'écoule des éléments pianiques. Il le désigna sous le nom de *Spirochæta pertenuis*. Bientôt après, tenant compte de la ressemblance de ce spirochète avec le *Spirochæta pallida*, que Schaudin venait de découvrir dans les lésions syphilitiques, il proposait de lui donner la dénomination de *Spirochæta pallidula*. Dix mois plus tard, Castellani publiait les résultats de l'examen de 14 cas de Pian et établissait que le *Spirochæta pertenuis* se rencontre constamment dans la sérosité des éléments pianiques encore fermés et se retrouve assez fréquemment dans les lésions ulcérées. Si Castellani à ce moment, admettait une étroite ressemblance entre le spirochète du Pian et celui de la syphilis, il croyait du moins qu'il était facile de les différencier; il devait revenir sur cette opinion dans ses travaux ultérieurs, et déclarer que la morphologie des deux parasites est très analogue, sinon identique.

Tel a été l'avis de la plupart des auteurs qui se sont occupés

1. CASTELLANI. *Journal of the Ceylon Branch. of. the Brit. med. assoc.* Juni 17 th. 1905; *Lancet*, August 1905; *Brit. med. Journal*, nov. 1905; *Journat of tropical medicine.* August 1905 et January ist 1906; *Deutsche med. Wochenschr.* Janvier 1906.

de la question. Pourtant, Martin Mayer[1], après avoir étudié 5 cas de Pian dans le laboratoire de Nocht, déclare que le *Spirochæta pertenuis* est plus fin et plus difficilement colorable que le *Treponema pallidum*, et Prowazek[2], à son tour, admet que les ondulations du *Spirochæta pertenuis* sont plus lâches et plus irrégulières que celles du tréponème et, enfin, que le spirochète du Pian se termine plus souvent par une boucle que celui de la syphilis. Quoiqu'il en soit, de nombreux travaux montrèrent bientôt toute la valeur de la découverte de Castellani : nous citerons les mémoires de Wellman[3] de Powell[4], de Borne[5], de Neisser, Baerman et Halberstädter[6], etc. D'après une statistique récente de Castellani[7], le chancre pianique humain contient constamment le *Spirochæta pertenuis* (6 fois sur 6 cas); on le retrouve presque toujours dans les éléments secondaires (70 fois sur 76 cas), et un peu moins souvent dans les papules ulcérées (52 fois sur 76 cas); dans plus de la moitié des cas, la rate (3 fois sur 5) et les ganglions lymphatiques (6 fois sur 11) contiennent le parasite qui, par contre, ne peut être décelé ni dans le sang de la circulation générale, ni dans le liquide cérébro-spinal. L'expérimentation confirme ces faits : le *Spirochæta pertenuis* fut retrouvé par Neisser, Halberstädter, Prowazek et par Castellani lui-même dans les lésions du Pian expérimental du singe. Castellani, chez ses animaux, n'a décelé le *pertenuis* ni dans les frottis du foie, ni dans ceux de la substance cérébrale, ni dans le liquide céphalo-rachidien, mais il l'a, presque toujours, trouvé dans le chancre pianique (15 fois sur 16), dans les lésions secondaires (2 fois sur 3), dans le suc splénique (3 fois sur 4); le spirochète n'a été découvert que 3 fois sur 6 dans les ganglions et 1 fois sur 4 dans la moelle osseuse.

La *recherche du Spirochæta pertenuis dans les coupes histologiques* a suscité de moins nombreux travaux. Il y a 2 ans, Spronk réussissait, en employant la technique de Levaditi, à

1. Martin Mayer, Spirochätenbefunde bei Framboesia tropica. *Deutsch. medicin. Wochenschrift.* 1907, n° 12.

2. Prowazek, *Arb. aus dem. Kaiserl. Gesundheitsamte*, 1907, vol. XXVI, fasc. I, p. 23. Suivant P., le *Sp. pert.* ne possède pas aussi régulièrement que le *pallida* un cil à chacune de ses extrémités.

3. Wellman, *Journ. of tropical medicine* Déc. 1905.

4. Powell, *Pathol. Society.* London, nov. 1905.

5. Von dem Borne, *Geneeskundig Tijdschrift*, 1906; *Arch. für Schiffs u. Trop. Hyg.* Sept. 1906.

6. Neisser, Baermann et Halberstädter, *Münch. med. Wochenschr.* n° 28, 1906.

7. Castellani, Frambœsia tropica. *The Journ. of hygiene.* July 1907. Vol. 7, n° 4.

mettre en évidence des spirochètes dans des coupes de Pian humain[1]. Nous avons examiné les préparations de ce savant et nous avons trouvé des spirochètes très nombreux dans l'exsudation de la surface et même dans la profondeur de la lésion. Aucun caractère morphologique ne permettait de différencier ces parasites du *Treponema pallidum*. Tandis que Martin Mayer ne voyait aucun spirochète sur les coupes de 5 papules pianiques, Shüffner[2] pouvait les imprégner et les étudier dans ses préparations : il les rencontrait à la surface de la lésion et dans la couche de Malpighi, où ils se réunissaient en amas abondants, dans les points où s'agglomeraient des polynucléaires, sous la forme de petits abcès.

Les premières *recherches expérimentales* sur le singe ont été faites par Castellani, mais ce furent *Neisser, Baermann et Halberstädter*[3], qui les premiers publièrent des faits incontestables. Les animaux sur lesquels ils poursuivirent leurs recherches furent le *gibbon*, le *M. cynomolgus*, le *M. nemestrin.* et le *M. nig.* De 13 à 96 jours après l'inoculation, ils virent apparaître l'accident primaire, caractérisé par une ulcération irrégulière et papillomateuse, recouverte d'une croûte épaisse. Leurs animaux présentèrent souvent des récidives locales, mais ne furent jamais atteints de manifestations secondaires. Dans une nouvelle série d'expériences *Halberstädter*[4], empruntant le virus à un chancre pianique et à des adenopathies pianiques de l'homme, inocula des singes inférieurs et des anthropoïdes (orang-outangs) : la durée de l'incubation varia de 22 à 50 jours ; 5 fois sur 11 des récidives locales se produisirent, mais c'est sur l'orang-outang, seul, que se développèrent des manifestations secondaires. Ces études furent enfin confirmées par *Castellani*, qui put inoculer un grand nombre de singes inférieurs (8 macaques et 11 semnopithèques). Il est donc bien établi que le Pian comme la syphilis, peut être inoculé aux singes inférieurs aussi bien qu'aux singes supérieurs.

Les premières recherches, sur l'*immunité acquise*, ont été faites sur l'*homme*. Mais tandis que l'observation clinique démon-

1. Communication faite à l'un de nous.

2. Shüffner, Die *Spirochaeta pertenuis* und das klinische Bild der Framboesia tropica. *Münch mediz. Wochenschr.* 1907, n° 28.

3. Neisser, Baermann et Halberstadter, *Münch. med. Woch.* 1906, n° 28.

4. Halberstadter. Weitere Untersuchungen über Framboesia tropica an Affen. *Arbeit aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*. Band XXVI. Fasc. 1, 1907.

trait la rareté des récidives du Pian, *Charlouis*[1] sur 10 sujets récemment guéris, réussirait à provoquer 7 fois l'apparition d'un nouveau chancre pianique en pratiquant une nouvelle inoculation de virus. Plus précises furent les recherches sur l'*immunité croisée* entre la syphilis et le Pian. On sait que *Charlouis* inocula avec succès la syphilis à un sujet atteint de Pian; *Bestion* et *Powell*[2] ont vu, d'autre part, des malades contracter la syphilis, alors qu'ils étaient encore porteurs d'une éruption pianique.

L'*étude expérimentale* de l'immunité croisée a été faite par *Neisser*, *Baermann* et *Halberstädter*, par *Halberstädter* et par *Castellani*. Ces recherches ont donné des résultats sur lesquels tous les auteurs sont d'accord : le Pian et la syphilis sont, pour eux, deux maladies essentiellement différentes : les singes syphilitiques peuvent prendre le pian et les animaux pianiques sont aptes à contracter la syphilis. Nous n'insisterons pas davantage sur ces conclusions; nous y reviendrons à propos de nos recherches personnelles.

*
**

Observation du malade. — M. X..., âgé de 25 ans, a toujours été bien portant et n'a jamais eu la syphilis. Après avoir fait un séjour de deux ans au Dahomey, il est rentré en France en 1905, et est bientôt reparti pour le Congo Français, où il a séjourné jusqu'en mai 1907 : il a successivement résidé aux sources de l'Alima et de l'Ogooué, région ou le Pian paraît assez fréquent. Le 4 décembre 1906, M. X... constata à la base de la verge, une petite vésicule transparente, grosse comme un grain de mil; le malade n'avait eu aucun coït suspect, mais, parmi les cases avoisinant celle de M. X..., s'en trouvait une où était un enfant atteint de Pian. A la vésicule, succéda une petite plaie large de 12 à 15 millimètres, à fond rosé, non induré, croûteuse, non suppurante, ne s'accompagnant d'aucune adénopathie : cette lésion, pansée avec des cendres, persista jusqu'au mois de février. Dix jours après l'éclosion du chancre pianique, débutaient les manifestations secondaires, papillomateuses du Pian, qui couvraient bientôt le thorax, les deux épaules et l'abdomen. M. X... souffrit à ce moment de violentes douleurs articulaires, localisées au coude gauche; mais il n'eut aucun accident qui eût pu éveiller l'idée de syphilis. Deux mois plus tard, une nouvelle poussée éruptive se produisit au niveau de la face, du front, du cou et des hypochondres. En mai, le malade fut vu par le Dr Allain, chef du service de santé à

1. Charlouis, *Vierteljahr. f. Dermat. u. Syph.*, 1881, vol. II. p. 431.
2. Powell, *Brit. Journ. of Dermat.* 1898. Cité d'après Jeanselme.

Brazzaville ; l'état du malade était à ce moment, tout à fait caractéristique, le Dr Allain porta le diagnostic de Pian, et adressa M. X... à l'un d'entre nous (Nattan-Larrier[1]). Le 15 *juin*, lorsque nous examinons le malade pour la première fois, son éruption pianique est presque éteinte, mais on en trouve facilement les traces sur la face, sur le dos et sur le thorax, où se voient de larges macules, d'un rouge jambonné ou cuivrées, disposées en fer à cheval ou en cercle et circonscrivant des espaces de peau saine. Il existe, d'autre part, encore quelques éléments pianiques en évolution. L'élément le plus typique siège à la face interne de la cuisse gauche. Arrondi, mesurant 2 centimètres de large, formant une saillie de 3 millimètres de haut, il a l'aspect papillomateux et présente une coloration rosâtre ; son centre est déprimé et, sur un segment de sa périphérie, adhère une mince croûtelle jaunâtre. L'ablation de cette croûte donne issue à de grosses gouttelettes d'un liquide filant et citrin. Des éléments analogues, moins florides, existent au front et à la nuque, on en trouve un dernier sur a lèvre supérieure où il déborde largement sur la muqueuse.

A Brazzaville, avant son départ, le malade avait été soumis, pendant 10 jours, au traitement mercuriel. Sur nos conseils, il fut traité par l'iodure de potassium (5 grammes par jour) et par la liqueur de Fowler. Son état resta stationnaire jusqu'au 9 septembre ; nous lui proposâmes, alors, le trait tement par les injections sous-cutanées d'*atoxyl*, il le refusa, mais il absorba *per os*, pendant 3 jours, une dose quotidienne de 40 centigrammes d'atoxyl et c'est alors, le 13 septembre, qu'il se présentait, de nouveau, à notre examen. Les lésions du front et de la face s'étaient tout à fait effacées celles du dos n'étaient plus représentées que par de larges taches brunâtres. La lésion de la cuisse mesurait encore 1 centimètre et demi de diamètre et formait une saillie de 2 millimètres, mais elle était guérie au centre, et épidermisée sur presque toute son étendue, sauf sur un segment semilunaire où elle était encore recouverte d'une croûtelle jaunâtre. La lésion de la lèvre avait conservé à peu près l'aspect que nous décrivions plus haut. Le 16 septembre, on pratique une injection sous-cutanée de 30 centigrammes d'atoxyl ; 2 jours plus tard, on constate que la lésion de la lèvre a disparu sur les deux tiers de son étendue et qu'elle est moins saillante ; la lésion crurale a diminué de moitié, et s'est entièrement épidermisée. Le 20 septembre, la lésion de la cuisse est complètement cicatrisée et celle de la lèvre est à peine perceptible [2].

Expérimentation. — Nos recherches ont été faites sur 2 chimpanzés et 2 singes inférieurs, *Macacus cynomolgus* et bonnet chinois.

A. Chimpanzé I. — *Inoculé* aux arcades sourcilières le 1er *juin* 1907 avec le produit du raclage de la lésion de la cuisse gauche du malade ; apparition du chancre pianique le 22 *juillet*, soit 52 jours après l'inoculation ; 26 *juillet*, croûte grisâtre, très proéminente, à bords polycycliques, du diamètre d'une pièce de un franc ; sous la croûte, la surface dénudée est granuleuse et bour-

1. Nous prions le Dr Allain d'accepter nos meilleurs remerciements.

2. Il est à noter que l'un de nos singes a également guéri très rapidement à la suite d'une injection d'atoxyl faite par M. Salmon. Ces faits confirment les recherches si intéressantes de Neisser. (*Deutsche medizin Wochen.* 19 sept. 1907).

geonnante, son raclage provoque une exsudation séreuse. Les frottis de la lésion montrent de nombreux spirochètes ; on ne constate pas d'hypertrophie ganglionnaire. *Mort* le 5 août, 12 jours après l'apparition du chancre. *Autopsie*: la *lésion* s'est flétrie, elle est couverte de croûtes, sous lesquelles existe une surface bourgeonnante. La *rate* est grosse (l'animal est mort d'une infection intercurrente). Les ganglions ne sont pas hypertrophiés.

Chimpanzé II. — *Inoculé* aux arcades sourcilières le 14 *septembre* 1907 avec le produit du raclage de la lésion de la cuisse gauche du malade ; cette lésion, presque entièrement cicatrisée, forme une large tuméfaction dont la scarification donne encore un liquide très riche en spirochètes ; *apparition*, du chancre pianique le 7 *octobre*, soit 24 jours après l'inoculation.



Chancres pianiques du chimpanzé n° 1.

Mac. cynomolgus. N° 14. — *Inoculé* aux arcades sourcilières le 27 *juillet* avec du virus prélevé sur le chimpanzé I. Le 26 *août*, petite lésion très douteuse. Apparition le 1er *septembre*, soit 34 jours après l'inoculation, d'une lésion croûteuse ; 17 *septembre*, la lésion de l'arcade sourcilière est recouverte de squames sèches et brillantes qui se détachent sur un fond violacé ; çà et là on voit de petites croûtes très saillantes. Le raclage du chancre donne une sérosité, où l'on trouve facilement des spirochètes. 1er *octobre*, la lésion évoluant par étapes ou récidives successives, une nouvelle croûte apparaît ; on ne constate pas d'hypertrophies ganglionnaires. 3 *octobre*, extirpation d'une petite lésion croûteuse ; injection d'atoxyl. 16 *octobre*, l'animal est guéri ; *mort*, le 22 octobre. *Autopsie* : l'autopsie ne montre rien de spécial.

Bonnet chinois n° 73. — *Inoculé* aux arcades sourcilières le 27 juillet avec du virus prélevé sur le chimpanzé I ; *n'a présenté aucune lésion.*

Constatations bactériologiques. — *a*) A l'état frais et à

l'*ultramicroscope*, seul, le virus du chimpanzé n° 2 a été examiné. Les spirochètes nous ont semblé plus gros et pourvus d'ondulations plus lâches que le *Treponema pallidum*; peut-être pourrait-on fonder une distinction sur la réfringence de l'organisme et la largeur de ses ondulations. Les spirochètes du Pian sont animés de mouvements latéraux en coup de fouet, mais ne présentent que de faibles mouvements de propulsion.

b) Sur les *préparations colorées* par la méthode de Giemsa, nous avons pu étudier à deux reprises le virus humain et le virus du chimpanzé. Les ondulations du *Spirochæta pertenuis* nous ont semblé plus irrégulières que celles du *Treponema pallidum*; de plus, l'extrémité du *Spirochæta pertenuis* se dispose plus souvent en boucle que celle de ce *Treponema*, mais la coloration des deux parasites est la même. Toutes ces différences disparaissent, d'ailleurs, si l'on colore les préparations par le procédé de Löffler (col. des cils. *Borrel* et *Burnet*).

Constatations histologiques. — Nous avons pratiqué l'examen histologique des lésions du chimpanzé et du macaque. C'est dans les premières seules, que nous avons pu révéler des spirochètes par l'imprégnation argentique.

a) *Lésions histologiques*. — *L'ulcération* est recouverte d'une croûte très épaisse, formée d'un réseau fibrineux très dense où s'enclavent de nombreux polynucléaires, pour la plupart altérés. Au-dessous de la croûte, au niveau des points où l'ulcération n'a pas détruit la totalité de l'épiderme, on remarque une prolifération très marquée de la couche de Malpighi. La même hypertrophie se montre plus accentuée encore, à la *périphérie de la lésion* : dans ces points, le derme a proliféré, en formant de longues papilles entre lesquelles s'enfonçent des coulées d'épiderme, mais on ne voit jamais se constituer un véritable papillome.

Au *centre du chancre pianique et dans sa profondeur*, on constate :

1° Une *infiltration* très intense du derme : cette infiltration, qui ne possède pas une distribution périvasculaire, est en grande partie formée de mononucléaires et de plasmazellen, mais elle n'est pas, comme celle que l'on observe dans le syphilome primaire, presque exclusivement due à ces éléments : on voit, en

effet, se mêler à eux un grand nombre de polynucléaires, qui pénètrent dans la profondeur de la lésion et forment, à longue distance, des traînées qui dissocient les fibres musculaires et constituent de petits *abcès miliaires* : ces petits abcès se retrouvent encore à la surface de la lésion et dans l'épaisseur de l'épiderme, surtout au voisinage de sa couche génératrice. Comme Shüffner l'avait vu sur les lésions humaines, ces petits abcès se développent dans des vacuoles formées par une véritable fonte des éléments épithéliaux ;

2° Une intégrité relative des vaisseaux : ceux-ci ne paraissent pas profondément altérés, comme ils le sont dans la syphilis ; ils ne subissent, en général, qu'une dilatation assez notable, manifeste surtout au niveau des fins capillaires. Ajoutons que, dans un de nos cas, nous avons pu constater dans la profondeur du derme de véritables *cellules géantes*, groupées par deux ou trois, au milieu des amas leucocytaires : aucun bacille de Koch ne put être coloré à ce niveau.

En résumé, quelques caractères très nets différencient l'aspect du chancre pianique de celui du chancre syphilitique. Le chancre pianique est surmonté d'une croûte beaucoup plus épaisse, et il forme une ulcération plus profonde, pour ainsi dire térébrante. Au voisinage de l'ulcération, se produit un allongement des papilles dermiques qui ne se rencontre jamais à un degré aussi marqué dans les lésions syphilitiques. Insistons, enfin, sur l'absence ou l'atténuation des altérations vasculaires et sur l'*afflux considérable des polynucléaires à la superficie et dans la profondeur de la lésion*.

b) Distribution des spirochètes dans les coupes. C'est seulement sur les coupes provenant des lésions du chimpanzé, traitées par la méthode à l'argent, que nous avons trouvé des spirochètes. *a*). A la *surface de la lésion*, ils se groupent en amas sous la croûte, et se montrent en extrême abondance dans l'exsudat qui la sépare de l'épithélium ulcéré (v. planche IV, fig. *b*.). *Dans le derme*, on ne trouve pas les spirochètes réunis autour des vaisseaux, comme dans la syphilis, mais on les décèle facilement dans les nodules formés de polynucléaires, même à une très grande distance de la superficie de la lésion. Nous n'avons jamais vu de spirochètes libres dans la lumière des vaisseaux. *Sur les coupes, les spirochètes de Pian ne présentent aucun*

caractère qui permette de le différencier du Treponema pallidum. Ajoutons que nous n'avons pu déceler le *Spirochæta pertenuis* ni dans les ganglions, ni dans aucun autre organe de nos animaux.

SYPHILIS ET PIAN. — Nous avons vu, au début de ce travail, que, d'après les recherches de Neisser, Baermann et Halberstädter, de Halberstädter et de Castellani, une première inoculation de Pian confère au singe une immunité plus ou moins définitive et qu'il n'y a pas d'immunité croisée entre la syphilis et le Pian. En effet, les singes qui ont contracté le Pian ne sont pas devenus réfractaires au virus syphilitique, et d'autre part, les animaux syphilitiques peuvent encore être contaminés par le virus pianique.

Nous avons répété ces recherches ; mais le matériel dont nous disposions ne nous a permis d'aborder que l'un des côtés de la question, à savoir si les singes porteurs de syphilis depuis un temps plus ou moins long, avaient acquis l'immunité à l'égard du Pian. Nous n'avons expérimenté que sur des singes inférieurs et nous avons choisi des animaux dont le chancre était apparu depuis plus de 15 jours et depuis près de quatre mois avant l'inoculation du Pian. Quelques-uns de ces animaux sont restés en observation pendant plus de trois mois.

I. SYPHILIS DE 59 JOURS. — *Mac. Rhesus*, n° 39. *Syphilis :* inoculé le 13 mai avec du virus humain; le chancre débute le 28 mai, après 15 jours d'incubation. *Pian :* inoculé le 27 juillet, soit 59 jours après le début du chancre syphilitique, avec le virus pianique du chimpanzé I. A ce moment le singe présentait encore quelques papules à l'arcade sourcilière gauche. *Aucune lésion pianique ne se produit.*

II. SYPHILIS DE 71 JOURS. — *Mac. cynomolgus. Syphilis :* inoculé le 17 juillet avec du virus humain ; le chancre débute le 6 août, après 20 jours d'incubation. *Pian :* inoculé le 16 octobre, soit 71 jours après le début du chancre syphilitique avec le virus pianique du chimpanzé II : A ce moment, le singe ne présentait plus aucune lésion syphilitique. *Aucune lésion pianique ne se produit.*

III. SYPHILIS DE 73 JOURS. — *Mac. cynomolgus n° 68. Syphilis* : inoculé le 17 juillet avec le même virus que le précédent, le chancre apparaît le 8 août après 22 jours d'incubation. *Pian* : inoculé le 16 octobre, 73 jours après le début du chancre syphilitique avec le même virus pianique que le précédent. *Aucune lésion pianique ne se produit.*

IV. SYPHILIS DE 86 JOURS. — *Mac. Rhesus n° 98, Syphilis*: inoculé le 13 août avec du virus humain, le chancre apparaît le 2 mai, après 19 jours d'incubation. *Pian* : inoculé le 27 juillet, 86 jours après le début du chancre syphilitique avec le virus du chimpanzé I : au moment de l'inoculation le singe présentait du psoriasis à la région sourcilière. *Aucune lésion pianique ne se produit.*

V. SYPHILIS DE 110 JOURS. — *Bonnet chinois n° 56. Syphilis* : inoculé le 20 mars avec du virus humain, le chancre apparaît le 17 avril, après 19 jours

d'incubation. *Pian* : inoculé le 27 juillet, 110 jours après le début du chancre syphilique, avec le virus du chimpanzé I : la lésion syphilitique était complètement guérie à ce moment. L'animal meurt le 17 octobre, *sans avoir jamais présenté de lésion pianique.*

On voit donc que, contrairement aux auteurs que nous avons cités, il *nous a été impossible de transmettre le Pian aux singes syphilitiques*. Il paraît en résulter que, du moins dans un assez grand nombre de cas, la syphilis confère aux singes une immunité assez durable contre le Pian. Peut-être pourrait-on nous objecter que, parmi les singes inférieurs, il en est qui possèdent une immunité naturelle contre le *Spirochæta pertenuis*. Sur un de nos singes, Bonnet chinois nº 73, en effet, l'inoculation du virus pianique a donné un résultat négatif. Cependant, on doit reconnaître que nous avons étudié l'immunité croisée sur un nombre assez considérable de singes inférieurs ; il est donc bien difficile d'admettre que tous ces animaux possédaient une immunité naturelle contre le Pian. D'ailleurs, une lecture attentive des observations de Neisser, Baermann et Halberstädter, de Halberstädter et de Castellani montre que les cas démonstratifs d'immunité croisée sont rares. C'est ainsi que dans la deuxième observation de Neisser, Baermann et Halberstädter le virus pianique a été inoculé 15 jours après celui de la syphilis, en pleine incubation syphilitique. Or, on sait que l'immunité syphilitique ne débute qu'un certain temps après l'apparition du chancre : dans ce cas, le Pian avait donc été inoculé avant que l'immunité contre la syphilis ne fût acquise. Les mêmes objections peuvent être adressées aux deux observations publiées par Halberstädter : dans l'une, le Pian fut inoculé 6 jours après l'apparition du chancre syphilitique, c'est-à-dire avant que l'immunité syphilitique ne fût complète ; dans l'autre, un macaque fut inoculé avec le Pian, 8 mois et demi après l'apparition du syphilome primaire, et peut-être, à cette date si reculée, l'immunité syphilitique était-elle déjà sensiblement atténuée. Nous pensons donc que, faites sur des singes qui ont reçu le virus pianique à un moment où leur immunité syphilitique était certainement active, nos expériences restent démonstratives et prouvent qu'au moins dans un certain nombre de cas, la syphilis donne l'immunité contre le Pian. Inversement, le Pian confère-t-il l'immunité contre la syphilis? Nous admettons que la question a été nettement résolue par Nisser, Baermann et

Halberstädter, par Halberstädter et par Castellani : les *animaux guéris du Pian sont encore susceptibles de contracter la syphilis*.

***

L'étude microbiologique des frottis et des coupes montre toute l'importance du rôle étiologique que joue le *Spirochæta pertenuis* de Castellani. Ces recherches prouvent encore que s'il existe des différences appréciables et incontestables entre l'agent pathogène du Pian et celui de la syphilis, de même qu'entre le chancre pianique et le chancre syphilitique, ces nuances ne sont pas assez tranchées pour que l'on puisse considérer les deux maladies comme absolument dissemblables. Il y a entre l asyphilis et le Pian une réelle affinité qui trouve son explication dans l'étroite parenté qui réunit le *Treponema pallidum* au *Spirochæta pertenuis*. Pour mieux préciser les idées, nous dirons que le Pian se présente comme une variété atténuée de la syphilis et qu'il serait, vis-à-vis d'elle, suivant l'expression de Shüffner, « comme le paludisme tierce vis-à-vis de la fièvre paludéenne pernicieuse ». Si l'on se rappelle que les singes inoculés avec du Pian n'acquièrent pas une immunité contre la syphilis, et si l'on admet, comme le montrent nos expériences, que les singes syphilitiques résistent à l'inoculation du Pian, on conviendra qu'il y a lieu, tout en admettant la parenté des deux virus, de considérer que le virus pianique possède une activité moins accentuée que celui de la syphilis [1].

1. Les recherches que nous avons faites sur le lapin, quoique peu nombreuses, viennent à l'appui de cette opinion. Contrairement à la syphilis, le Pian ne semble pas inoculable à cette espèce animale ; nous avons en effet, sans succès, inoculé, dans la cornée et dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, du virus pianique pris sur le chimpanzé et sur le macaque.

EXPLICATION DES PLANCHES III ET IV

PLANCHE III

Fig. a (en haut). *Frottis d'une léson pianique de l'homme.* Coloration au Giemsa, *g* hématies; *s*, *s''*, spirochètes régulièrement ondulés; *s'*, spirochète à ondulations irrégulières.

Fig. b (en bas). *Coupe de chancre pianique du chimpanzé n*o 1. Coloration à l'éosine-hématéine, *u*, extrémité de l'ulcération; *f p*, follicule pileux; *p*, épiderme hypertrophié; *f*, foyer d'infiltration à mononucléaires; *i*, traînée inflammatoire; *v*, vaisseaux dilatés.

PLANCHE IV

Fig. a (en haut). *Spirochètes dans un foyer d'infiltration à polynucléaires, situés dans la profondeur du chancre pianique du chimpanze n*o 1. Coloration à l'argent, *l*, exsudation coagulée; *c*, cellules mononucléaires; *p*, leucocyte à noyau polymorphe; *s*, spirochètes.

Fig. b. (en bas) *Spirochètes dans la partie profonde de la croûte qui couvre le chancre pianique du chimpanzé n*o 1. Même coloration, *e*, exsudation riche en leucocytes polynucléaires ; *ep*, épiderme avec *v*, vésicule épidermique contenant des leucocytes détruits; *p* papille ; *s*, spirochètes.

RECHERCHES SUR LE SÉRUM ANTIRABIQUE [1]

PAR A. MARIE

II

Les recherches sur le traitement préventif de la rage par le sérum d'animaux vaccinés remontent à 1889; elles comptent donc parmi les premiers essais de sérothérapie. A cette époque, Babes et Lepp (1) avaient annoncé que des chiens inoculés pendant six jours avec du sang d'animaux de la même espèce vaccinés contre la rage, avaient acquis une immunité suffisante pour résister à l'injection subdurale de virus des rues. D'autre part, de deux chiens traités de la même façon après morsure, l'un avait survécu, l'autre avait succombé à une maladie autre que la rage.

Plus tard, Babes et Cerchez (2) déclaraient que cette nouvelle méthode permettait au chien de résister à l'infection intracérébrale pratiquée quelque temps avant l'immunisation. S'appuyant sur ces recherches, Babes essaya cette méthode sur 12 individus mordus par des loups : ces malades reçurent donc, en plus du traitement intensif par les moelles desséchées, 40-60 c. c. du sang de chiens vaccinés contre la rage. Une seule personne succomba en cours de traitement, les autres furent sauvées.

Ainsi que le fit remarquer Högyes (3), on ne pouvait rien conclure de ces essais sur l'homme, puisque le traitement pastorien avait été suivi ; or, administré seul, il donne déjà d'excellents résultats contre les morsures par loups enragés.

Depuis 1891, Tizzoni (4) et ses collaborateurs, Schwarz (5), Centanni (6), ont poursuivi à Bologne l'étude du sérum des animaux vaccinés, administré avant ou après l'infection. D'une façon générale, ces expérimentateurs ont toujours conclu à la possibilité de prévenir la rage, par l'emploi du sérum antirabique seul, lequel pourrait même, d'après eux, présenter un certain pouvoir curatif (7).

1. A. MARIE, Recherches sur le sérum antirabique. I. *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XVIII, janvier 1905, p. 1.

Leur sérum était fourni par des lapins vaccinés au moyen d'injections de virus fixe atténué par le suc gastrique. Pour prévenir la rage, il suffisait d'inoculer de 11 à 26 c. c. de sérum, dans les veines, le péritoine ou bien sous la peau, en plusieurs fois et à raison de 3-5 c. c par séance. Le pouvoir préventif du sérum s'exerçait encore après une inoculation de virus des rues dans le nerf sciatique, à une époque où la culture avait déjà commencé dans l'encéphale.

Les propriétés du sérum de Tizzoni étaient d'ailleurs assez fragiles ; mais à la condition de le conserver à l'abri de la lumière et à une température de 10-15°, il pouvait garder son activité pendant au moins trois ans.

Certains échantillons du sérum, soit de lapin, soit de mouton, étaient tellement actifs qu'à la dose de 0,08 c. c., ils protégeaient le lapin contre l'infection subdurale par un virus des rues. Plus tard, le sérum de Tizzoni devait acquérir des propriétés préventives tout à fait prodigieuses (6). Cinq jours après les dernières vaccinations, le pouvoir antirabique *in vitro* du sérum de mouton allait jusqu'à 1 : 5000. Au bout de dix jours, il atteignait 1 : 10000, de 26 jours 1 : 25000.

A notre connaissance, personne, depuis les travaux de Tizzoni, n'a réussi à préparer un sérum doué de ces propriétés merveilleuses. Nous même (8) nous n'avons jamais vu l'activité d'un sérum antirabique dépasser 1 : 40. Quant à son pouvoir préventif, nous allons voir qu'il se réduit en général à une *action retardante* sur l'incubation de la rage.

A priori, il semble inattendu qu'il en puisse aller autrement, si l'on veut bien opposer à l'incubation souvent très longue de cette maladie la durée toujours brève de l'immunité passive. S'il ne paraît pas impossible qu'un sérum antirabique introduit dans l'organisme, avant ou aussitôt après le virus, puisse prévenir ses effets pathogènes, il ne saurait s'agir que d'une propriété limitée dans le temps et sous la dépendance de nombreux facteurs. Une fois le pouvoir passager exercé par ce liquide, le virus rabique, qui aura échappé à son action indirecte, pourra cultiver et accomplir son rôle pathogène — tout au moins dans la majorité des cas.

D'autre part, il faut faire un choix parmi les preuves expé-

rimentales à donner d'un pouvoir préventif du sérum antirabique.

L'infection par la voie musculaire et cutanée, celle qui se produit dans les conditions naturelles de transmission de la rage et qui paraît être ainsi toute indiquée, constitue une épreuve trop infidèle pour être utilisable. On peut en juger par l'essai suivant. Trois cobayes reçoivent sous la peau 5, 10, 20 c. c. d'un sérum antirabique actif à 1 : 30 ; le lendemain, chacun d'eux est inoculé dans les muscles de la nuque avec 1 c. c. d'une émulsion épaisse de virus fixe ; un lot de trois témoins subit la même épreuve.

Résultat : deux de ces derniers prennent la rage, le troisième reste bien portant. Quant aux traités, un seul survit à l'épreuve, celui à 10 c. c., les deux autres succombant à l'infection à des époques différentes. Rien à conclure d'une telle expérience, le seul survivant des trois cobayes traités ayant peut-être résisté naturellement à l'infection, tout comme l'un des témoins. C'est là une critique applicable à toute épreuve de ce genre et Remlinger (9) en souligne aussi l'importance dans des essais analogues.

Nous ferons les mêmes réserves pour l'épreuve virulente par la voie intranerveuse. Le nerf sciatique, assez difficile à atteindre chez le lapin, constitue une porte d'entrée tout à fait aléatoire pour le virus fixe aussi bien que pour celui des rues.

Pour des raisons opposées, parce qu'elle est trop sévère, la trépanation ne peut non plus convenir, et on ne saurait s'étonner de voir les animaux, traités par du sérum seul, succomber après une épreuve intracérébrale, quand on sait avec quelle rareté l'immunité active elle-même les protège contre les suites d'une injection virulente sous-duremérienne.

Nous nous sommes demandé si en pareil cas le pouvoir phagocytaire ne devrait pas être stimulé au lieu même de l'inoculation d'épreuve.

On injecte à 5 lapins 20-30 c. c. d'un sérum antirabique actif à 1 : 5 ; tous reçoivent cette dose sous la peau. Après 3 jours on inocule à quatre d'entre eux 0,25-0,75 c. c. de bouillon ordinaire dans l'encéphale, puis on les éprouve tous par une injection virulente intracérébrale 24 heures après. Les cinq

animaux prennent la rage dans les délais normaux. (Tableau I. Lapins 8-12.)

Dans une autre expérience, des cobayes inoculés sous la peau avec 10 c. c. d'un sérum actif à 1 : 40 succombent, dans le même temps que le témoin, à l'épreuve de la trépanation pratiquée quelques heures ou quelques jours après l'injection du sérum.

Si l'inoculation sous-duremérienne doit être abandonnée, il reste un mode d'infection qui, par sa sévérité, constitue l'épreuve de choix pour ces recherches de sérothérapie, c'est l'injection du virus fixe, et mieux encore, du virus des rues, dans la chambre antérieure de l'œil.

Or, les animaux, lapins et chiens, que nous avons éprouvés par cette voie, ont toujours pris la rage, qu'ils aient reçu ou non du sérum antirabique. Après l'injection du virus des rues, la maladie débute à des dates assez éloignées du jour de l'épreuve ; après l'infection par le virus fixe, c'est vers le 15e ou le 20e jour que les premiers symptômes se manifestent. Avec le sérum, nous avons noté des retards, souvent considérables, surtout chez le chien : des animaux succombaient seulement dans le cours du deuxième mois, après l'injection d'une grande quantité de sérum, faite 3-4 jours avant l'épreuve intraoculaire ; nous n'avons jamais constaté de survie définitive.

Comme on pouvait supposer qu'un sérum homologue aurait une action spécifique plus marquée que le sérum hétérologue, fourni pas des moutons vaccinés contre la rage, nous avons immunisé six lapins qui ont reçu, pendant 58 jours, des émulsions de plus en plus chargées de virus fixe (méthode de Högyes). Quatre de ces animaux ayant succombé à des infections intercurrentes, les deux survivants ont fourni un sérum actif à 1 : 3 et 1 : 5, et qui a servi à inoculer des lapins, éprouvés dans l'œil à des temps variables. Là encore, les résultats n'ont pas été satisfaisants. Dans une expérience, nous voyons 2 animaux injectés dans les veines avec 5 et 10 c. c. du sérum, prendre la rage au 18e jour ; une seule fois, il nous a été donné de voir un lapin résister pendant 2 mois 1/2.

Le mode d'introduction du sérum paraît avoir peu d'influence sur l'issue des expériences. Nous avons inoculé dans le péritoine, dans les veines, sous la peau, des quantités souvent con-

sidérables et répétées, sans obtenir de meilleurs résultats, et nous croyons pouvoir conclure à l'inefficacité *quoad vitam* du sérum antirabique, tant homologue que hétérologue, administré *seul* préventivement contre l'infection rabique.

Remlinger (10) a repris ces expériences avec un sérum antirabique particulièrement actif, qui lui a donné, chez le lapin et le chien, des résultats meilleurs. Les lapins qui avaient reçu 5-20 c. c. de sérum seul sous la peau, ont présenté 44 0/0 de survies.

Les chiens ont résisté dans une proportion moindre : une inoculation de 20 c. c. de sérum antirabique a permis à ces animaux de supporter l'épreuve intraoculaire avec le virus fixe dans 33 0/0 des cas. Il est bon d'ajouter que celui-ci est moins cons-

I. — *Inoculations de sérum antirabique seul.*

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	EPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Lapin 1850	10 juillet	10 c. c.	VF 1 : 10 œil.	11 juillet	Rage le 30 juillet
2. Lapin 1720	10 —	15 c. c.	VF 1 : 10 œil.	12 —	R. le 29 juillet.
3. Lapin 2020	10 —	20 c. c.	VF 1 : 10 œil.	12 —	R. le 3 août.
4. Lapin 2000	4 mai.	5 c. c. (veine).	VF 1 : 10 œil.	4 mai.	+ le 8 mai.
5. Lapin 1970	4 —	5 c. c. (veine).	VF 1 : 10 œil.	5 —	R. le 22 mai.
6. Lapin 2220	4 —	10 c. c. (veine).	VF 1 : 10 œil.	6 —	R. le 22 —
7. Lapin 2200	4 —	20 c. c. (veine).	VF 1 : 10 œil.	7 —	R. le 28 juillet
8. Lapin	15 juillet 18 —	20 c. c. s.-cut. 0,50 c. c. bouillon dans le cerveau	VF 1 : 100 dans le cerveau.	19 juillet	R. le 27 —
9. Lapin	15 — 18 —	20 c. c. s.-cut. 0,50 c. c. bouillon dans le cerveau	VF 1 : 100 dans le cerveau.	19 —	R. le 28 —
10. Lapin ...	15 — 18 —	25 c. c. s.-cut. 0,25 c. c. bouillon dans le cerveau	VF 1 : 100 dans le cerveau.	19 —	R. le 27 —
11. Lapin ...	15 — 18 —	30 c. c. s.-cut. 0,75 c. c. bouillon dans le cerveau	VF 1 : 100 dans le cerveau.	19 —	R. le 28 —
12. Lapin ...	15 —	30 c. c. s.-cut.	VF 1 : 100 dans le cerveau.	19 —	R. le 28 —

tamment pathogène, pour le chien comme pour le lapin, que le virus des rues, injecté dans la chambre antérieure de l'œil.

Après avoir constaté dans le sérum antirabique l'absence de tout pouvoir préventif réel, nous avons eu l'idée de rechercher si les mélanges de virus rabique et de sérum spécifique pourraient protéger les animaux contre la rage. Le problème se posait ainsi : le microorganisme de cette infection, lorsqu'il ne trouve pas dans les tissus un milieu favorable à sa conservation et à sa culture, confère à l'animal un certain degré d'immunité. L'addition au virus de sérum antirabique ne suffirait-elle pas à rendre à coup sûr inoffensive l'injection virulente sous-cutanée?

On sait, depuis les travaux de Pasteur, que le tissu cellulaire est peu favorable à la prolifération du microbe de la rage. Dans une lettre à Duclaux (11) et dans d'autres communications, Pasteur signalait les différences observées par lui quant au mode d'inoculation et quant à l'espèce animale. Ainsi, l'injection de virus rabique sous la peau du chien lui donnait parfois l'immunité, surtout quand les doses étaient fortes[1]; en injectant de petites quantités, la rage apparaissait plus souvent, mais jamais d'une façon constante. Ces recherches devaient être reprises plus tard par Helman.

Il est d'ailleurs assez difficile de déterminer la gravité absolue de l'inoculation du virus fixe sous la peau, surtout chez les chiens. Ces animaux peuvent avoir été mordus par d'autres bêtes atteintes de rage et ainsi plus ou moins fortement immunisés contre la maladie. Pour parer à cette cause d'erreur, nous avons procédé à l'inoculation de chiens âgés de quelques mois et n'ayant jamais été en liberté. Six de ces animaux ont reçu, sous la peau du ventre et dans les *muscles* de la ceinture abdominale, des quantités variant entre 2 et 20 c. c. d'une émulsion décimale de virus fixe; or, la moitié, c'est-à-dire 3 chiens ont pris la rage après une incubation d'environ 1 mois, ceux qui avaient reçu 2,12 et 16 c. c. de l'émulsion bulbaire.

La fréquence suivant laquelle ces animaux prennent la maladie par suite d'une inoculation sous-cutanée de virus rabique est très variable suivant les séries : en fixant à 40 0/0

1. Nous avons montré (*C. R. Soc. Biol.* novembre 1903) que l'inoculation intraveineuse de filtrat de cerveau rabique pouvait conférer une certaine immunité aux animaux.

les réussites, nous pensons rester plutôt en deçà de la vérité.

Dans l'expérience ci-dessus, les 3 chiens qui avaient survécu furent éprouvés 2 mois plus tard par une inoculation de virus des rues dans la chambre antérieure : tous résistèrent.

De son côté, Remlinger (10) désirant déterminer dans quelle proportion l'inoculation du virus fixe peut conférer l'immunité aux animaux, a procédé à des essais sur le chien et le lapin. Ce dernier animal paraît particulièrement sensible à une injection virulente sous-cutanée ; mais lorsqu'il n'a pas succombé à la rage, il a acquis un état réfractaire contre l'épreuve intraoculaire. La dose injectée était de 3 à 10 c. c. d'une émulsion décimale de virus fixe.

Quant aux chiens qui avaient résisté à l'inoculation sous-cutanée de 6 à 12 c. c. d'émulsion à 1 : 10, Remlinger constatait une immunité contre l'épreuve intraoculaire dans la proportion de 33 0/0 seulement.

*
* *

Nos premières recherches sur l'action des mélanges virus sérum contre l'infection rabique remontent à 1902 (12). A cette époque, nous pensions qu'il fallait se contenter de mélanges *neutres* dont l'excès de sérum avait été rejeté après centrifugation.

Une émulsion de virus fixe était préparée directement dans le sérum antirabique ; après 24 heures, le mélange était centrifugé et le dépôt débarrassé, par un lavage avec l'eau physiologique, de l'excès du sérum. L'inoculation était faite sous la peau du ventre à des lapins qui résistaient plus tard à l'épreuve intra-oculaire pratiquée avec le virus fixe ou le virus des rues, non à la trépanation.

Plus tard, des échecs nous firent penser que les proportions de sérum et de virus fixe, contenues dans un mélange neutre pour le cerveau, ne pouvaient convenir pour donner une immunité solide.

Dans le tableau II, on voit, en effet, que sur une série de 8 lapins, 3 ont pris la rage malgré l'injection de 15 c. c. d'un mélange neutre virus sérum, dont le dépôt avait subi un lavage à l'eau physiologique.

II. *Inoculations de mélanges neutres VF + sérum, après rejet du sérum et lavage du dépôt.*

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Lapin 2.930.	27 septembre	15 c.c.	VR. œil.	12 octobre	+ 13 octobre
2. Lapin 3.280.	27 septembre	15 c.c.	VR. œil.	12 octobre	R. le 15 novembre
3. Lapin 2.860.	27 septembre	15 c.c.	VR. œil.	12 octobre	R. le 16 décembre
4. Lapin 2.690.	27 septembre	15 c.c.	VR. œil.	12 octobre	∞
5. Lapin 2.580.	27 septembre	15 c.c.	VF. œil.	12 octobre	∞
6. Lapin 2.780.	27 septembre	15 c.c.	VF. œil.	12 octobre	∞
7. Lapin 2.930.	27 septembre	15 c.c.	VF. œil.	12 octobre	∞
8. Lapin 2.550.	27 septembre	15 c.c.	VF. œil.	12 octobre	R. le 28 novembre
9. Lapin 2.450.	27 septembre	15 c.c.	VF. œil.	12 octobre	∞
		Témoins			
Lapin 33.......	»	»	VR. œil.	12 octobre	R. le 29 octobre
Lapin 19.......	»	»	VR. œil.	12 octobre	R. le 6 novembre
Lapin 90.......	»	»	VR. œil.	12 octobre	R. le 7 novembre
Lapin 26.......	»	»	VR. œil.	12 octobre	R. le 24 novembre
Lapin 87.......	»	»	VF. œil.	12 octobre	R. le 8 novembre
Lapin 68.......	»	»	VF. œil.	12 octobre	R. le 30 octobre
Lapin 84.......	»	»	VF. œil.	12 octobre	+ le 20 octobre
Lapin 5........	»	»	VF. œil.	12 octobre	+ le 27 octobre
Lapin 88.......	»	»	VF. œil.	12 octobre	R. le 29 octobre

Nous étions donc conduit à rechercher ce que produirait l'addition à des mélanges neutres, d'une part d'un excès de sérum antirabique, d'autre part d'un excès de virus fixe. Voici une expérience concernant le premier point.

On ajoute à une émulsion décimale virulente son volume d'un sérum antirabique d'une activité telle qu'il peut neutraliser 30 parties de la dilution centésimale de virus fixe. Après 24 heures de séjour à la glacière, ce mélange est inoculé tel quel, c'est-à-dire avec un grand *excès de sérum* aux doses indiquées dans le tableau III. Les 3 chiens éprouvés 1 mois après, au moyen d'une injection de virus des rues dans l'œil, prennent *tous* la rage.

C'est au même résultat qu'aboutissent les expériences de Remlinger (10) sur des lapins inoculés avec des mélanges contenant un excès de sérum.

Les choses ne se passent pas toujours avec la même régularité, et il peut se faire qu'un léger excès de sérum dans un mélange n'empêche pas l'immunisation ; nous avons relaté cette série comme tout à fait typique du rôle joué par un excès considérable de sérum neutralisant. Tout se passe comme si le virus trop vite englobé, à la faveur de la substance immunisante, n'avait pas le temps de vacciner l'animal. En pareil cas (9) Remlinger a même vu la rage éclater avant l'épreuve oculaire à la suite de l'inoculation sous-cutanée du mélange contenant un excès de sérum.

III. *Inoculations de mélanges contenant un excès de sérum anitrabique.*

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. ox-terrier ♂ ...	13 avril	20 c.c. mélang.	VR. œil.	15 mai	R. le 29 juin
2. Griffon	13 avril	40 c.c. mélang.	VR. œil.	15 mai	R. le 9 juin
3. Bull	13 avril	40 c.c. mélang.	VR. œil.	15 mai	R. le 27 mai
4. Fox-terrier ♀ ...	13 avril	12 c.c. VF. 1:10	VR. œil.	15 mai	R. le 28 mai
5. Chien de rue noir	13 avril	20 c.c. sér. seul	VR. œil.	15 mai	R. le 30 mai

La plupart de nos essais ultérieurs d'immunisation ont été faits avec des mélanges contenant un *excès de virus fixe* (13).

Dans une première série (tableau IV), 5 chiens ont reçu 8-10 c. c. d'un mélange de 3 grammes de cerveau de passage et de 3,5 c. c. de sérum antirabique, centrifugé après 21 heures de séjour à la glacière, et lavé une fois dans l'eau physiologique. Un seul chien a succombé à l'épreuve intraoculaire pratiquée cinq semaines environ après la vaccination.

Dans le tableau IV, on voit aussi que les émulsions de virus fixe dans du sérum neuf, ou de cerveau normal dans du sérum antirabique n'ont pas eu d'action préventive (témoins 1 et 2).

L'essentiel, dans l'immunisation avec ces mélanges contenant un excès de virus, est donc de se débarrasser, par un lavage, de la non-partie du sérum fixée (14-15) sur la subs-

IV. — *Inoculations de mélanges avec excès de VF, après centrifugation et rejet du sérum.*

(Épreuve après quelques semaines.)

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Caniche noir..	16 décemb.	10 c. c.	VF. œil	23 janvier.	∞
2. Bull-terrier...	16 —	10 c. c.	VF œil	23 —	∞
3. Roquet.......	16 —	10 c. c.	VF. œil	23 —	∞
4. Braque marron	25 février.	8 c. c.	VR. œil	21 mars.	R. le 1er avril.
5. Chien de rue noir........	11 août.	10 c. c.	VR. œil	14 septemb.	∞
		Témoins.			
1. Fox marron..	25 février.	7 c. c. de VF. + sér. lapin normal.	»	»	R. le 14 mars.
2. Ratier bringé.	12 janvier.	20 c. c. de cerv. lapin normal et sér. antir.	VR. œil	15 janvier.	R. le 2 février.
3. Roquet noir..	»	»	VF. œil	23 —	R. le 14 —
4. Chien jaune..	»	»	VR. œil	14 septemb.	R. le 2 janvier.
5. Caniche noir..	»	»	VR. œil	14 septemb.	+ le 17 octobre (passage positif à lapin n° 12)
6. Chien marron.	27 juin.	5 c. c. sérum antir. mél. avec VF. puis centrif.	VR. œil	30 juin.	R. le 18 juillet.

tance cérébrale. Nous pensons que les résultats peuvent varier énormément si l'on néglige une telle précaution.

Remlinger (9) obtient d'excellents résultats avec des mélanges exactement neutres. Il cite même une expérience dans laquelle injecté sous la peau ou dans le péritoine à doses énormes, un tel mélange « préserve contre l'épreuve sévère de l'inoculation sous-duremérienne. Un lapin de 2.350 grammes reçoit sous

la peau, du 3 au 13 février 1905, 240 c. c. du mélange V S. Il est trépané le 27 avec du virus fixe et échappe à la rage. L'immunité se maintient du reste pendant fort peu de temps. Le 17 mars, le lapin est trépané à nouveau. Il meurt de rage le 28 au 11e jour. »

Nous même, nous n'avons jamais vu de lapin résister à la trépanation à la suite d'injections de V S neutre, et nous nous demandons si l'animal dont Remlinger cite l'observation n'a pas succombé à la première trépanation, avec un retard de 18 jours (27 février-17 mars).

En expérimentant sur un grand nombre d'animaux, cet auteur a vu que les mélanges *neutres* inoculés tels quels, c'est-à-dire *sans rejet du sérum*, protégeaient les lapins dans 27 0/0 des cas, à la dose de 10-40 c. c. Par contre, ces mélanges n'ont immunisé aucun des chiens dans les expériences de Remlinger, ce qui lui fait conclure que, chez les animaux, l'inoculation sous-cutanée de virus sérum avec *excès de virus* constitue la méthode de choix.

Elle lui a donné 28 0/0 de survies chez le lapin et 62 0/0 chez les chiens qui avaient reçu 20-40 c. c. d'un mélange neutre additionné de 6-12 c. c. de virus fixe au centième.

Nous ferons remarquer une fois de plus que les résultats sont meilleurs encore si l'on prend soin de rejeter le sérum avant l'inoculation du mélange contenant un excès de virus fixe.

Quelle est la durée de l'immunité ainsi acquise?

Le tableau V montre que dans une série de 7 chiens, 4 ont résisté à l'épreuve intraoculaire pratiquée 6 *mois* après la vaccination. De plus, ces quatre animaux étaient encore immunisés 11 *mois* après elle, puisqu'ils ont bien supporté la 2e épreuve (du 5 mai 1905), ainsi que 10 autres chiens vaccinés 12 et 14 *mois* auparavant par 1 ou par 2 inoculations (tableau V bis).

De tous ces faits nous pouvons dès maintenant conclure à l'action efficace du virus fixe et de lui seul. Le sérum exerce seulement le rôle d'un adjuvant : mélangé avec le virus il l'atténue suffisamment pour le rendre inoffensif sous la peau, en facilitant l'englobement du microorganisme rabique avant qu'il n'ait eu le pouvoir de cultiver dans les filets nerveux. Mais, et nous insistons sur ce point particulier d'une règle très générale

sans doute, un excès de sérum, c'est-à-dire de substance immunisante inutilisée, agit d'une façon tout opposée au but poursuivi, probablement en ne laissant pas aux tissus le temps de s'immuniser.

V. — *Inoculations de mélanges avec excès de VF. après centrifugation et rejet de sérum.*

(Épreuve après plusieurs mois.)

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Chien braque	25 juin 1904	60 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 17 janv. 1905
2. Épagneul nº 15......	25 juin 1904	30 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904 5 mai 1905	∞
3. Chien de rue nº 8....	25 juin 1904	45 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 17 déc. 1904
4. Griffon nº 11........	25 juin 1904	30 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904 5 mai 1905	∞
5. Chien de rue nº 18...	25 juin 1904	30 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904 5 mai 1905	∞
6. Chien de berger nº 19.	25 juin 1904	30 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904 5 mai 1905	∞
7. Épagneul nº 20.. ...	25 juin 1904	40 c. c.	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 16 déc. 1904
		Témoins.			
1. Griffon noir.........	»	»	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 15 déc. 1904
2. Épagneul jaune.....	»	»	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 16 déc. 1904
3. Caniche noir[1].......	»	»	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 15 déc. 1904
5. Noir blanc moucheté.	»	»	VR œil.	3 déc. 1904	R. le 18 déc. 1904

1. Ce chien, après plusieurs jours de paralysie rabique, a guéri. On a cité quelques observations analogues.

*
* *

L'intérêt, qui s'attache à préserver de la rage l'animal qui suffit à lui seul (16) à entretenir cette maladie, nous a fait rechercher si *deux inoculations* ne seraient pas néces-

saires pour conférer au chien une immunité plus solide encore.

Parmi les animaux nombreux que nous avons injectés avec des mélanges contenant un excès de virus, *jamais* nous n'avons observé un seul cas de rage du fait d'une telle inoculation. Beaucoup de lapins, de cobayes, de chiens, qui ne figurent pas

V *bis*. — *Inoculations de mélanges avec excès de VF après centrifugation et rejet du sérum.*

(Epreuve après plusieurs mois.)

ANIMAUX	DATE	QUANTITÉ	ÉPREUVES	DATE de la 1re	DATE de la 2e	RÉSULTATS
1. Noir frisé nº 10	16 fév. 1904	34 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
2. Chien noir nº 7	16 fév. 1904	34 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
3. Caniche noir nº 13.......	1er av. 1904 15 av. 1904	30 c.c. 40 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
4. Caniche marron nº 5....	1er av. 1904 15 av. 1904	25 c.c. 40 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
5. Barbet marron nº 6........	1er av. 1904 15 av. 1904	30 c.c. 40 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
6. Loulou noir nº 16.......	1er av. 1904 15 av. 1904	30 c.c. 30 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
7. Gros chien marron.....	29 av. 1904	30 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	R. le 30 mai 1905
8. Setter noir pattes feu......	29 av. 4904	30 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
9. Chien lévrier bringé......	29 av. 1904	20 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
10. Caniche noir.	29 av. 1904	30 c.c.	VR. œil	4 fév. 1605	5 mai 1905	∞
11. Museau noir, pattes blanc.	29 av. 1904	30 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1005	R. le 30 mai 1905
12. Petit caniche noir.........	29 av. 1904	20 c.c.	VR. œil	4 fév. 1905	5 mai 1905	∞
		Témoins.				
1. Bull, jaune,..	»	»	VR. œil	4 fév. 1905	»	R. le 21 février
2. Chien de rue.	»	»	VR. œil	4 fév. 1905	»	R. le 24 février
3. Chien de rue bringé......	»	»	VR. œil	»	5 mai 1905	R. le 30 mai
4. Griffon.......	»	»	VR. œil	»	5 mai 1905	R. le 30 mai
5. Terrier noir..	»	»	VR. œil	»	5 mai 1905	R. le 23 mai

sur nos tableaux, parce que non éprouvés, ont reçu impunément sous la peau des quantités souvent considérables et répétées de mélanges contenant un grand excès de virus fixe et nous pensons pouvoir conclure à leur parfaite innocuité, à la double condition d'être préparés 24 heures avant l'injection et dépouillés ensuite de l'excès du sérum par la centrifugation et un lavage à l'eau physiologique.

Dans ces conditions, une telle préparation devient tout à fait précieuse pour la mise en train des animaux, moutons et chèvres, dont on doit poursuivre l'immunisation. A l'Institut Pasteur, où l'on prépare depuis 6 ans le sérum antirabique, nous utilisons les mélanges virus sérum pour vacciner les moutons destinés à fournir ce liquide. Au lieu de les immuniser par des injections intraveineuses, d'un maniement délicat, nous pratiquons 2 inoculations d'une préparation contenant un excès de virus ayant fixé la substance spécifique du sérum antirabique; après quelques jours, ces moutons peuvent subir sans danger le traitement bihebdomadaire par le virus fixe pur. Jamais nous n'avons eu d'échec.

Nous avons donc pensé que cette immunisation de la peau et des muscles par les mélanges virus sérum pourrait être appliquée au chien, en permettant à cet animal de supporter, quelques jours après, une injection de virus pur, et voici des expériences basées sur ce procédé, dont les résultats ont été tout à fait satisfaisants.

Les premières ont été faites sur des lapins, les autres sur des chiens.

Trois encéphales de lapins de passage (VF) et représentant 29 grammes de substance virulente, sont broyés et émulsionnés dans 150 c. c. d'eau physiologique. Après avoir passé la préparation à travers une toile de batiste, on l'additionne de 100 c. c. d'un sérum antirabique actif à 1 : 1.

Au bout de vingt heures de séjour à la glacière, le mélange est centrifugé et le culot est dilué, après lavage, dans Q. S. d'eau physiologique pour faire 133 c. c. que l'on injecte aux animaux figurés sur le tableau VI bis; 17 jours plus tard, deuxième et dernière injection, cette fois avec 5 grammes environ de cerveau rabique pour chacun des six chiens.

Ils ont présenté presque tous, à la suite de cette 2e inocula-

tion, des indurations, dues à l'absence de sérum et probablement aussi à l'espèce très éloignée, le lapin, qui avait fourni la matière cérébrale.

VI. — *Inoculations de virus sérum, ensuite de virus pur, sous la peau (Lapins).*

(Épreuve après plusieurs mois.)

ANIMAUX	DATE DE LA 1re inoc.	QUANTITÉ	DATE DE LA 2e inoc.	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Lapin 12	6 juillet	10 c. c. VS	17 juillet	1gr,25 VF.	VF. œil.	2 octobre.	∞
2. Lapin 14	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
3. Lapin 15	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
4. Lapin 16	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
5. Lapin 24	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
6. Lapin 27	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
7. Lapin 31	6 —	10 c. c. VS	17 —	1,25 VF.	VF. œil.	2 —	∞
			Témoins				
1. Lapin 33	»	»	»	»	VF. œil.	2 —	R. 7 nov.
2. Lapin 34	»	»	»	»	VF. œil.	2 —	R. 21 oct.
3. Lapin 35	»	»	»	»	VF. œil.	2 —	R. 17 oct.

Ainsi que l'indique le tableau VI *bis*, les six chiens ont tous résisté à une épreuve intraoculaire faite 3 mois plus tard ; aujourd'hui encore (mars 1908), ils se portent bien.

Un des caractères généraux de l'immunisation antirabique par les mélanges virus sérum est de s'établir rapidement : tandis qu'après les vaccinations pastoriennes, il faut une quinzaine de jours pour permettre aux animaux d'être immunisés, nous voyons ce nouveau traitement leur conférer une immunité rapide. Remlinger (17), en effet, a montré qu'une dose de 60 c. c. de virus sérum pouvait préserver le mouton de la rage, trois jours encore après une infection virulente intraoculaire, ce qui fait conclure à cet auteur que le traitement des animaux mordus réussirait sans doute encore 5-8 jours après l'accident.

Mais, si notre nouveau procédé d'immunisation offre un intérêt pratique, ce dont nous sommes, quant à nous, absolu-

VI *bis*. — *Inoculations de virus-sérum, ensuite de virus pur, sous la peau. (Chiens.)*
(Épreuve après 3 mois.)

ANIMAUX	DATE de la 1re inoc.	QUANTITÉ	DATE de la 2e inoc.	QUANTITÉ	ÉPREUVE	DATE	RÉSULTATS
1. Fox-terrier fauve....	20 mars	20 c. c. VS	6 avril	12 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
2. Fox-terrier blanc....	20 mars	20 c. c. VS	6 avril	12 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
3. Griffon....	20 mars	20 c. c. VS	6 avril	12 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
4. Braque....	20 mars	33 c. c. VS	6 avril	20 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
5. Chien de rue noir.	20 mars	20 c. c. VS	6 avril	16 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
6. Fox-terrier jaune....	20 mars	20 c. c. VS	6 avril	12 c. c. VF	VR œil	10 juin	∞
			Témoins				
1............	»	»	»	»	VR œil	10 juin	R. le 20 juin
2............	»	»	»	»	VR œil	10 juin	R. le 22 juin
3............	»	»	»	»	VR œil	10 juin	R. le 20 juin
4............	»	»	»	»	VR œil	10 juin	R. le 24 juin
5............	»	»	»	»	VR œil	10 juin	R. le 3 juill.

ment persuadé, cet intérêt semble résider surtout dans la possibilité de vacciner préventivement les animaux contre l'infection par une morsure rabique.

En l'absence d'une application rigoureuse des mesures de police sanitaire, en particulier de l'abatage des chiens errants, il serait profitable de pouvoir vacciner rapidement, au moyen de deux inoculations, les chiens déclarés.

En effet, dans la transmission de la rage, le péril vient moins des animaux que l'on sait avoir été mordus que de ceux qui l'ont été à l'insu de leur maître : semblable danger disparaîtrait pour les chiens vaccinés. Si nos premières expériences

nous ont montré que l'immunisation, par les mélanges avec excès de virus, pouvait persister, 12 mois et plus, il est à supposer que notre nouveau procédé par 2 inoculations vaccinantes sera doué d'une efficacité plus longue et plus générale. Et s'il est prouvé que des chiens ainsi immunisés résistent un an plus tard à une épreuve intraoculaire, *a fortiori* ils seront vaccinés contre *toute morsure* rabique.

Chez l'homme, l'excellence du traitement pastorien ne saurait être mise en doute ; mais on peut songer à l'améliorer encore. Les accidents toxiques, bien étudiés par Remlinger (18-19), sont sans doute justiciables d'un traitement sérique. D'autre part, on ne peut nier qu'un grand progrès serait accompli si l'on pouvait simplifier le procédé très long et compliqué des moelles desséchées.

Dans ce but, la méthode des mélanges virus sérum a été introduite, depuis 1904, dans la pratique des vaccinations antirabiques chez l'homme.

L'inoculation est faite sous la peau des flancs, pendant les 3 premiers jours du traitement, qui est ensuite poursuivi à partir de la moelle du 8e jour. Les expériences de Remlinger (20) ont montré qu'il n'y avait pas à craindre d'*anaphylaxie* à la suite des injections de virus sérum. Jusqu'ici ce mode de thérapeutique, surajouté à la méthode pastorienne, a été appliqué à 300 personnes environ, toutes grièvement mordues à la face ou aux extrémités. Les résultats ont été des plus encourageants : nous les ferons connaître ultérieurement.

Paris, 19 novembre 1907.

OUVRAGES CITÉS

1. — Babes et Lepp. Recherches sur la vaccination antirabique. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. III, 1889, p. 384.

2. — Babes et Cerchez. Expériences sur l'atténuation du virus rabique fixe. *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. V, 1891, p. 625.

3. — Högyes. Lyssa. Vienne, 1897. *Spec. Pathol. u. Ther. v. Nothnagel*, t. V.

4. — Tizzoni et Centanni. Modo di preparare il siero antirabbico ad alto potere curativo e metodo di determinare la potenza. *Atti della reale Academia delle Scienze dell' Instituto di Bologno*, février 1895.

5. — Tizzoni et Schwarz. Il siero di sangue di animali vaccinati contro la rabbia nella immunita e nella cura di quella malattia. *Rif. med.*, 1891, n° 191.

6. — Tizzoni et Centanni. Siero antirabbico ad alto potere immunizante. *Rif. med.*, 1893, n° 297.

7. — Tizzoni et Schwarz. La profillassi e la cure della rabbia col sangue degli animali vaccinati contro quella malattia. *Rif. med.*, 1892, nos 18 et 19.

8. Marie. — De l'activité des sérums antirabiques. *C. R. Soc. Biol.*, 9 février 1907, p. 228.

9. — Remlinger. Contribution à l'étude du mélange de sérum antirabique et de virus fixe. *C. R. Soc. Biol.*, 16 décembre 1905, p. 658.

10. — Remlinger. Contribution à l'étude du sérum antirabique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, 25 mai 1907, p. 961.

11. — Pasteur. Lettre à M. Duclaux. *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. II, 1887.

12. — Marie. Immunisation par des mélanges de virus rabique et de sérum antirabique. *C. R. Soc. Biol.*, novembre 1902.

13. — Marie. Préservation du chien contre la rage par les mélanges de virus fixe et de sérum antirabique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LIX, p. 637, et *Congrès international de médecine à Lisbonne*, 1906.

14. — Marie. Recherches sur le sérum antirabique. I. *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XVIII, janvier 1905, p. 1.

15. — Marie. De quelques propriétés du sérum antirabique. *C. R. Soc. Biol.*, juin 1904.

16. — Marie. L'injection du virus des rues au chien. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, 12 octobre 1907.

17. — Remlinger. Vaccination du mouton contre la rage à l'aide des mélanges virus-sérum. *C. R. Soc. Biol.*, 1904, n° 29, p. 310.

18. — Remlinger. Accidents paralytiques au cours du traitement antirabique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1905, t. XIX, p. 625.

19. — Remlinger. Les travaux récents sur la rage. *Bull. de l'Institut Pasteur*, t. II, 1904, p. 753 et 793.

20. — Remlinger. Absence d'anaphylaxie au cours des injections sous-cutanées de virus rabique et de sérum antirabique. *C. R. Soc. de Biol.*, 24 novembre 1906, p. 475.

ERRATA

Dans le n° du 25 février dernier, travail de M. Nicolle et G, Abt:

Page 157, ligne 10. Au lieu de : nous ne nous occupons pas, lire : nous ne nous occuperons pas.

Page 170, ligne 32. Au lieu de : opposé à la nôtre, lire : opposée à la nôtre]

Page 171, lignes 1, 2, 3, Au lien de : A côté des toxines solubles « classiques », et des endotoxines « classiques » (antigènes) se rencontrent un certain nombre de *poisons* encore *mal déterminés*, lire : A côté des toxines solubles « classiques » et des endotoxines « classiques » se rencontrent un certain nombre de *poisons* (antigènes) encore *mal déterminés*.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE AVRIL 1908. N° 4

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Étude de quelques modes de neutralisation des toxines bactériennes.

PAR A. MARIE ET M. TIFFENEAU.

I

L'une des toxines bactériennes qui se prête le mieux à l'étude des phénomènes de neutralisation est la toxine tétanique, tant à cause des réactions caractéristiques qu'elle provoque chez les mammifères qu'en raison de l'affinité élective qu'elle manifeste *in vitro* pour la substance nerveuse de ces animaux. A côté de ce mode de neutralisation, propre à la toxine du tétanos et à celle du botulisme, il en est d'autres d'un caractère plus général, qui ont été également l'objet de nos recherches et feront l'objet d'un autre mémoire.

NEUTRALISATION PAR LA SUBSTANCE CÉRÉBRALE

On sait que la substance cérébrale possède vis-à-vis de la tétanotoxine une action à la fois neutralisante et fixatrice [1]. Emulsionnée dans un liquide renfermant une quantité convenable de toxine, la matière cérébrale du cobaye peut, en vertu d'une adsorption particulière, dépouiller la solution de la totalité de son poison : une partie aura été *neutralisée* à la façon des combinaisons chimiques, stables, l'autre se sera *fixée* à la manière des teintures sur les textiles. Physiologiquement, cette double action est ainsi caractérisée : par son pouvoir *neutralisant*, le cerveau rend la toxine tétanique inoffensive pour l'organisme qui a reçu l'émulsion, tandis que ce dernier réagit spécifiquement en présence d'une substance ayant seulement *fixé* le poison.

1. Ces deux qualificatifs sont employés souvent l'un pour l'autre ; nous les conserverons, faute de termes plus suggestifs, mais en attribuant à chacun d'eux un sens spécial.

L'étude du phénomène de *neutralisation*, le seul qui nous intéresse ici, comporte au moins deux points : la toxine tétanique est-elle détruite ou combinée, autrement dit, est-il possible de libérer le poison dans un mélange neutre cerveau-toxine? Cette question une fois résolue, nous aurons à donner une interprétation de la nature de cette neutralisation de la tétanotoxine par la substance cérébrale.

1. *Mise en liberté de la toxine tétanique après sa neutralisation.* L'action neutralisante a pour caractère essentiel de dépendre, en majeure partie, de la teneur en eau de constitution de la matière cérébrale. L'un de nous [1] a montré qu'après dessiccation dans le vide, cette substance a perdu les 97 p. 0/0 de son pouvoir neutralisant, ce qui en reste ne paraissant pas notablement influencé par la chaleur sèche de 60, 100 et 126°.

Comme conséquence de ce phénomène, nous nous sommes demandé si la privation d'eau dans un mélange neutre cerveau-toxine ne suffirait pas pour libérer le poison, au moins partiellement.

Expérience I. — Un encéphale de cobaye, du poids de 3^{gr},40, est broyé et émulsionné dans 60 doses mortelles pour la souris de toxine tétanique (0,03 c. c.), diluées dans 10 c. c. d'eau physiologique. Après 15 heures à la glacière, on centrifuge et on dessèche à la machine pneumatique 1/4 du dépôt que l'on fait macérer 5 heures dans 3 c. c. d'eau distillée.

ACTION DE LA DESSICCATION *in vitro*

12 février.	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Souris 1. Liquide centrifugé, 1 c. c........	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Souris 2. Dépôt centrifugé, 0,25 c. c.......	0	0	0	0	0	—	—	—	—
Souris 3. Liquide de macération de 1/4 du *dépôt desséché*, 1,50 c. c.......		=	≡	≣	+				

Ainsi, tandis que dans le mélange neutre cerveau-toxine, l'injection du dépôt ou du liquide a provoqué seulement une légère roideur de la patte, l'inoculation du liquide de macéra-

1. Morax et Marie, Note sur les propriétés fixatrices de la substance cérébrale desséchée, *C. R. Soc. Biol.*, 27 décembre 1902.

tion de 1/4 du même dépôt desséché a donné à la souris un tétanos mortel en 4 jours. La privation d'eau a suffi pour libérer dans ce mélange 8 doses mortelles de toxine tétanique, ce qui nous montre dès maintenant l'importance du rôle de l'eau dans la constitution de la substance combinée au poison.

En se reportant aux propriétés générales des albuminoïdes qui, sous l'influence de la dessiccation, se coagulent et perdent leurs principaux caractères chimiques, on est conduit naturellement à se demander si, dans le cerveau des mammifères, la substance neutralisante ne serait pas elle-même de nature albuminoïde, et, dans ce cas, si l'addition d'une diastase protéolytique à un mélange neutre cerveau-toxine ne suffirait pas pour libérer la tétanotoxine.

Après avoir essayé, sans résultat satisfaisant, divers ferments tels que la trypsine, nous avons employé, dans les expériences qui suivent, la *papaïne* (Merck [1]).

Expérience II. — On broye et émulsionne 2 grammes de cerveau de cobaye avec 5 doses mortelles de toxine tétanique, soit 0,0025 c. c. dans q. s. d'eau physiologique pour faire 6 c.c.; exposition à la température de la chambre pendant 24 heures, après quoi le mélange est centrifugé, et 1/3 du dépôt traité par 0,07 grammes de papaïne.

ACTION DE LA PAPAÏNE *in vitro*

6 mars.	7	8	9	10	11	12	13
Souris 1. Liquide centrifugé, 2 c. c.	0	0	0	0	0	0	
Souris 2. Dépôt sans papaïne, 1/3	0	0	0	0	0	+ sans tos	
Souris 3. Dépôt traité par la papaïne, 1/3	0	0	=	≡	≣	≣	+

Cette expérience, choisie parmi beaucoup d'autres analogues, a été répétée avec quelques modifications. Nous avons reconnu l'inutilité de faire agir la papaïne à 38° avant l'inoculation : on risque alors de détruire une partie du poison au fur et à

1. Dans nos premiers essais, nous avions utilisé un produit ancien qui avait perdu une partie de son activité. La papaïne, que la maison Merck nous a obligeamment envoyée, doit être employée après filtration, afin d'éviter les accidents sphacéliques, dus en partie à des principes non solubles.

mesure de sa libération, car la papaïne exerce sur la tétanotoxine une action destructive dont voici un exemple.

Expérience III. — On met à 38° le mélange :

Eau distillée 15 c. c.
Toxine tétanique 0,01 c. c. (20 doses mortelles).
Papaïne 0,30 grammes.

Après 30 minutes d'exposition à l'étuve, on filtre sur bougie, et on laisse séjourner 24 heures à la chambre, après quoi le mélange est inoculé, à la dose de 3 c. c. représentant plus de 4 doses mortelles, à une souris qui n'a offert par la suite aucun symptôme tétanique.

Cette expérience nous explique pourquoi nous n'avons jamais observé le passage de la toxine dans le liquide centrifugé des mélanges papaïnés.

Dans certains essais, l'injection de ce liquide a provoqué la mort plus ou moins rapide des animaux, sans tétanos : on peut supposer que dans ce cas des produits toxiques s'étaient formés soit par autolyse des cellules nerveuses, soit par action de la papaïne sur elles.

Quoi qu'il en soit, il ressort de nos expériences que la papaïne peut libérer à peu près la moitié de la toxine tétanique adsorbée par la substance nerveuse.

Ainsi, deux procédés très différents, la *dessiccation* et l'action d'une *diastase*, concordent tous les deux pour montrer que dans les mélanges neutres cerveau-toxine, celle-ci n'est pas détruite, mais est entrée dans une *combinaison* dont nous étudierons la nature.

***

Il était à penser que, chez les animaux tétanisés, le poison n'est pas détruit entièrement, mais se combine en partie dans l'intimité du tissu nerveux[1]. Dans cette hypothèse, l'un des deux procédés que nous venons d'indiquer serait-il applicable à la recherche de la tétanotoxine dans les centres nerveux des animaux morts du tétanos? Il faut se rappeler toutefois qu'il n'y a pas analogie complète entre l'adsorption du poison tétanigène par la cellule vivante et la neutralisation de celui-ci *in vitro*; que d'autre part, la quantité de toxine fixée pendant la maladie doit être tout à fait minime.

1. Nous rappellerons qu'après la mort, on peut extraire la toxine tétanique des troncs nerveux, mais non des substances médullaire et cérébrale. Cf. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XI et XVI.

Expérience IV. — On inocule, dans les muscles d'une patte d'un cobaye de 595 grammes, environ 100 doses mortelles, soit 1 c. c. de toxine tétanique, à la suite de quoi l'animal succombe dans la nuit. Le bulbe est broyé et desséché dans le vide ; la poudre est délayée dans 2 c. c. d'eau distillée et l'émulsion inoculée à une souris.

ACTION DE LA DESSICCATION SUR LE BULBE D'UN ANIMAL TÉTANISÉ

16 février.	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Souris 1. Émulsion du bulbe non desséché, 0,50 c. c.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Liquide de macération du bulbe desséché, 2 c. c.			0	0	—	=	=	=	=	=	=

Mais si, au lieu d'injecter la toxine dans les muscles d'un animal aussi sensible que le cobaye, on l'inocule dans le sang du lapin, très peu sensible à la tétanotoxine, le poison fixé ne peut être mis en évidence au moyen de la dessiccation, parce que l'injection intraveineuse a eu pour résultat de répartir sur toute la surface de l'axe cérébro-spinal la faible portion de toxine qui avait échappé aux effets de l'immunité naturelle du lapin ; car on sait que l'inoculation intraveineuse provoque un tétanos général d'emblée.

Expérience V. — Un lapin de 2,920 grammes succombe au tétanos généralisé, 36 heures environ après une injection de 20 c. c. de toxine tétanique dans la veine auriculaire : le bulbe est desséché dans le vide.

ACTION DE LA DESSICCATION SUR LE BULBE D'UN ANIMAL TÉTANISÉ

16 février.	17	18	19	20	21	22	23	24
Souris 1. Bulbe non desséché, 0,50 gr.	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Sérum sanguin, 0,50 c. c.		0	—	=	≡	≡	+	
Souris 3. Eau de macération du bulbe desséché, 3 c. c.			0	0	0	0	0	0

Le procédé de la dessiccation a donc réussi seulement dans le cas d'inoculation intramusculaire et chez le cobaye ; quant à l'em-

ploi de la papaïne, il ne nous a pas permis d'extraire la toxine tétanique du cerveau des animaux inoculés dans le sang ou sous la peau avec des doses même plus fortes que dans les expériences précédentes. Ainsi, traité par la papaïne, le bulbe d'un cobaye, injecté avec 300 doses mortelles dans les muscles, a déterminé chez la souris seulement un très léger tétanos local.

Pour parvenir à isoler, à l'aide de la dessiccation ou de la papaïne, le poison dans les centres nerveux, il faut l'y introduire directement.

Expérience VI. — Deux cobayes, après avoir reçu 0,05 c. c. de toxine dans le cerveau, succombent au tétanos cérébral en l'espace de 12 heures environ. L'encéphale du premier est broyé et mis sous le vide pneumatique. Une moitié du cerveau du second est broyée et additionnée de 0,02 grammes de papaïne, l'autre moitié de 0,20 grammes. Étuve pendant 30 minutes.

ACTION DE LA DESSICCATION ET DE LA PAPAÏNE APRÈS TÉTANOS CÉRÉBRAL

20 février.	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Souris 1. Cerveau non desséché, 0,50 gr.	0	0	0	0	—	—	—	—	
Souris 2. Liquide de macération du cerveau desséché, 1 c. c......		0	—	=	≡	≡	≡	≣	+

27 février.	28	1	2	3	4	5	6	7	8
Souris 3. Cerveau non papaïné........		0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 4. Cerveau + 0,02 gr. papaïne..		—	—	—	—	=	=	=	=
Souris 5. Cerveau + 0,20 gr. papaïne (*a*).		0	0	0	0	0	0	0	+ sans tos

Si, après l'introduction de la toxine au sein des cellules nerveuses, on peut l'y retrouver facilement, la raison en est que le poison, grâce à son affinité pour la substance cérébrale, s'y est localisé, échappant ainsi à la destruction de nature complexe qui suit tout autre mode d'inoculation.

Ces expériences *in vivo* concordent dans une certaine mesure

(*a*) L'absence de tout signe tétanique chez cette souris est due à l'excès de papaïne, qui a détruit la toxine.

avec nos recherches *in vitro*, pour montrer que la tétanotoxine n'est pas non plus détruite dans le tissu nerveux des animaux vivants, mais y contracte une combinaison stable qu'on ne peut dissocier sans détruire l'un des constituants.

Nous ferons remarquer encore que la toxine ainsi extraite du cerveau chez l'animal tétanisé manifeste, vis-à-vis de l'organisme des mammifères, des propriétés absolument *identiques* à celles qu'elle offrait avant d'avoir contracté la combinaison *in vivo*. Une telle constatation est loin d'être favorable à l'hypothèse d'après laquelle le poison tétanique élaborerait, aux dépens de certaines cellules de l'organisme, une substance immédiatement tétanisante et comparable par ses effets à un alcaloïde tel que la strychnine. Au contraire, le tétanos provoqué par la toxine extraite du cerveau des animaux ne manque jamais de présenter la même *incubation* que la maladie naturelle, incubation qui n'offre d'ailleurs rien de surprenant, si l'on veut bien se rappeler qu'une action diastasique est toujours fonction du temps.

2. *Nature de la substance qui neutralise la toxine tétanique dans le cerveau.* Après avoir montré que cette neutralisation consiste en une combinaison, essayons de préciser la nature de la substance qui dans les centres nerveux s'unit au poison tétanique.

Nous avons déjà rappelé qu'elle est assez fragile pour être détruite par privation d'eau, et, pour cette raison, nous avons présumé de sa nature *albuminoïde*.

On sait en effet que la dessiccation provoque une *coagulation* qui fait perdre leurs principales propriétés aux albuminoïdes. La chaleur étant également susceptible de déterminer un processus analogue, nous avons étudié le pouvoir neutralisant de la substance cérébrale préalablement chauffée.

Expérience VII. — On met au B. M. à 56° pendant 30 minutes 1,10 grammes de cerveau de cobaye, émulsionné dans 3 c. c. d'eau physiologique; ensuite on incorpore 3 doses mortelles de toxine, soit 0,0015 c. c. dans cette émulsion que l'on injecte après 24 heures de séjour à la chambre.

La souris présente au troisième jour un début de tétanos auquel elle succombe au cinquième. On voit donc que l'action de la chaleur est favorable à l'hypothèse d'une substance neutralisante albuminoïde.

Cette neutralisation est-elle équivalente à la fixation des

diastases protéolytiques par les albuminoïdes? Würtz a montré en effet que la digestion de la fibrine par la papaïne se fait en deux temps, le premier consistant en une fixation du ferment. On pouvait se demander si, dans l'adsorption d'une toxine, le premier acte ne serait pas un phénomène de même ordre et rechercher ce qui se passerait au cas où le pouvoir adsorbant de la substance nerveuse aurait été utilisé d'abord par la papaïne.

EXPÉRIENCE VIII. — On incorpore 0,20 grammes de papaïne dans 2,10 grammes de cerveau de cobaye et on ajoute q.s. d'eau physiologique pour faire 6 c.c. Après 30 minutes à l'étuve, on additionne le mélange de 5 doses mortelles de toxine tétanique, soit 0,0025 c. c. On laisse à la chambre pendant 24 heures, après quoi on centrifuge pour inoculer séparément liquide et dépôt. Une expérience de contrôle est faite avec du cerveau non papaïné.

NEUTRALISATION PAR DU CERVEAU TRAITÉ PAR LA PAPAÏNE

5 mars.	6	7	8	9	10	11	12	13
	—	—	—	—	—	—	—	—
Souris 1. Emulsion papaïnée, ensuite toxinée, 0,50..	0	0	0	0	—	=	=	≡
Souris 2. Emulsion non papaïnée, mais toxinée, 0,50.	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 3. Liquide centrifugé du cerveau papaïné et toxiné, 2 c. c..........................	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 4. Liquide centrifugé du cerveau non papaïné, 2 c. c..................................	0	0	0	0	0	0	0	0

Cette expérience montre que le traitement préalable du cerveau par la papaïne lui a retiré une partie de son pouvoir neutralisant, puisque l'animal a eu un tétanos local très net, tandis que la souris témoin n'a présenté aucune roideur tétanique. Si la toxine non neutralisée n'a pu être décelée dans le liquide centrifugé (souris 3), c'est sans doute qu'elle a été partiellement et simplement *fixée* sur le cerveau, ce qui a rendu celui-ci tétanigène, le reste du poison ayant été détruit par la papaïne en solution.

*
* *

On a voulu attribuer aussi les propriétés fixatrices du cerveau aux *corps gras* qu'il renferme. Il y avait donc lieu de rechercher si elles n'appartiendraient pas à la fois aux albuminoïdes et aux substances grasses ou même à un complexe albuminoïde graisse.

En admettant que les corps gras du cerveau — par leur fonction éthers de la glycérine — jouent, soit directement, soit sous forme de complexe organique, un rôle spécifique dans la neutralisation de la tétanotoxine, il suffira pour le savoir de saponifier ces graisses par une diastase lypolytique, telle que la *stéapsine*. Nous avons utilisé dans ce but une solution centésimale de stéapsine liquide (Grübler), après nous être assurés de l'innocuité des doses employées. Il ressort de nos essais que cette diastase hydrolysante n'a aucun pouvoir de libérer la toxine tétanique fixée sur la substance cérébrale. D'où il résulte que les corps gras du cerveau, en tant qu'éthers de la glycérine saponifiables par la stéapsine, n'excercent aucune action neutralisante sur la tétanotoxine.

Nous avons alors recherché si, privée de ses matières grasses par un solvant neutre, la substance cérébrale conserverait encore son pouvoir neutralisant. Il était tout indiqué d'employer pour cela *l'éther* sulfurique, privé d'alcool et saturé d'eau par agitation avec l'eau distillée (éther aqueux).

Expérience IX. — Un cerveau de cobaye de 3,30 grammes est divisé en deux parts dont l'une est mélangée avec 2 doses 1/2 de toxine tétanique + 3 c.c. d'eau physiologique. Après 24 heures à la glacière, on centrifuge et inocule séparément dépôt et liquide. L'autre partie du cerveau est épuisée par l'éther aqueux, et le résidu d'évaporation de l'éther, d'un poids de 0,10 gramme est additionné de 2 doses 1/2 de toxine.

Cette moitié de cerveau, ainsi dégraissée par l'éther, est mélangée avec 2 doses 1/2 de tétanotoxine, laissée 24 heures à la glacière et centrifugée.

ACTION DE L'ÉTHER SUR LE POUVOIR NEUTRALISANT DU CERVEAU

7 janvier.	8	9	10	11	12	13
Souris 1. 2 doses 1/2 toxine (témoin).........	=	+				
Souris 2. Résidu d'évaporation de l'éther + 2 doses 1/2 toxine.............		=	≡	+		
Souris 3. Dépôt du cerveau-toxine non dégraissé, 1,50 c. c................		0	0	0	0	0
Souris 4. Liquide du cerveau-toxine non dégraissé, 1,50 c. c................		0	0	0	0	0
Souris 5. Liquide du cerveau toxiné et dégraissé par l'éther, 1,50 c. c............		0	—	=	≡	≡
Souris 6. Dépôt du cerveau toxiné et dégraissé par l'éther; 1,50 c. c..............		0	0	0	—	—

On voit par cette expérience que les substances extraites du cerveau au moyen de l'éther — corps gras, lécithines, cholestérine — ne peuvent neutraliser la tétanotoxine, et cependant la substance cérébrale traitée par l'éther aqueux a perdu son pouvoir spécifique d'adsorption (souris 5), d'où il résulte que celui-ci est dû soit à des albuminoïdes perdant leurs propriétés neutralisantes après traitement par l'éther, — processus vraisemblablement coagulant, — soit à un complexe albuminoïde-graisse dissociable par l'éther et neutralisant la toxine par son groupement albuminoïde.

Malgré cela, il était indiqué d'essayer séparément l'action *in vitro* de la *lécithine* et de la *cholestérine* sur la toxine tétanique. Voici quelques essais entrepris avec chacun de ces composés :

Expérience X. — On abandonne à la glacière pendant 24 heures le mélange.

1° { Toxine tétanique.................. 0,0025 c. c.
Lécithine fraîche de l'œuf......... 0,25 c. c.
Eau physiologique................. Q. s. pour émulsionner.

L'émulsion de la cholestérine a été faite également dans l'eau physiologique ; cette émulsion est assez difficile à préparer ainsi, mais nous avons tenu à n'employer aucun adjuvant. Nous avons mis en tubes scellés pendant 7 jours à 38° les deux mélanges :

2° { Eau physiologique .... 0,90 c. c.
Toxine tétanique .... 0,10 c. c.

3° { Émulsion de cholestérine .... 0,90 c. c. (environ 0,12 gr. de cholestérine).
Toxine tétanique .... 0,10 c. c.

ACTION DE LA LÉCITHINE ET DE LA CHOLESTÉRINE SUR LA TOXINE

11 mars.	12	13	14
Souris 1. Toxine tétanique 0,0005	=	≡ +	
Souris 2. Mélange 1°		≡	≡ +
25 mars.	26	27	
Souris 3. Mélange 2° = 0,01 c. c	≡	+	
Souris 4. Mélange 3° = 0,01 c. c	≡	+	

Comme on le voit, la lécithine et la cholestérine n'ont aucune action *in vitro* sur la tétanotoxine [1].

Nous montrerons plus tard que la neutralisation de la toxine par la *choline* et par la *névrine*, produits de dédoublement de la matière cérébrale, ne présente non plus aucune spécificité.

En résumé, nos recherches prouvent que le pouvoir neutralisant exercé sur la tétanotoxine par la substance cérébrale, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, relève de l'action de ses composés *albuminoïdes*, à l'exclusion de ses autres constituants.

13 janvier 1908.

1. La cholestérine a été employée dans le traitement du tétanos. *M. Almagia* et *G. Mendes* (Boll. d. R. Accad. med. di Roma, t. XXIII, f. 3 et 4, 1907, analysé dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, t. V. p. 541) rapportent deux observations de tétaniques traités, le deuxième exclusivement, par des injections de cholestérine, et finalement guéris. Nous pensons qu'il s'agit de cas de guérison spontanée: des essais nombreux sur les animaux nous ont montré que la cholestérine et la lécithine étaient dépourvues de tout pouvoir, même préventif, contre l'intoxication tétanique.

Contribution à l'étude de la flore normale des selles du nourrisson

PAR LE D[r] GRÉGOIRE JACOBSON
Ancien interne des hôpitaux de Paris, docent de clinique infantile à la Faculté de médecine de Bucarest.

(Travail du laboratoire communal de la ville de Bucarest.)

Ayant entrepris, pour mon instruction personnelle, l'étude de la flore normale des selles du nourrisson, j'ai pu constater certaines particularités non décrites relatives aux formes microbiennes déjà connues, et, d'autre part, étudier quelques formes ou variétés nouvelles. Bien qu'il ne s'agisse nullement ici d'une étude complète, j'ai pensé que mes notes pourraient être utiles à ceux que cette question occupe, et c'est ce qui m'a décidé à les publier.

J'ai étudié 5 cas dont 4 de nourrissons *nourris exclusivement au sein et parfaitement bien portants*, et un de nourrisson alimenté au babeurre à cause d'accidents dyspeptiques, disparus, d'ailleurs, depuis ce mode d'alimentation.

Dans chaque cas j'ai fait des cultures en divers milieux aérobies, en milieux acides et en milieux anaérobies. L'isolement des espèces anaérobies a toujours été fait en agar profond et en suivant la technique, aujourd'hui classique, exposée dans les mémoires de *Veillon et Zuber* et dans les thèses de *Hallé*, *Tissier*, *Guillemot*, *Rist*, *Cottet*.

J'ai fait chaque fois des cultures à 20° et 2 fois des cultures à haute température : mais je n'ai pu isoler ni des espèces poussant uniquement à 20°, ni des espèces thermophiles obligatoires comme celles décrites par M[lle] *Tsiklinsky*[1].

J'ai employé deux fois les procédés d'isolement préconisés par *Rodella*[2] et dans un cas j'ai pu ainsi isoler une espèce (*B. nebulosus gazogenes*) que je décrirai plus loin.

1. M[lle] TSIKLINSKY, Sur la flore microbienne thermophile du canal intéstinal de l'homme. *Ann. de l'Inst. Past*. 1903, p. 217.

2. RODELLA, Ueber anaerobe Bakterien im normalen Sänglings-stuhle. *Zeitschr. f. Hyg.*, 7 févr. 1902.

Je ne m'attarderai pas ici à la description de chaque cas en particulier, mais seulement à l'étude des espèces. J'ai trouvé la flore intestinale des nourrissons au sein sensiblement conforme à la description aujourd'hui classique de *Tissier*[1]. *Le bacillus bifidus* prédominait dans tous les cas et paraissait, *sur les lames*, constituer la presque totalité de la flore. Les cultures m'ont permis d'isoler, en dehors des espèces coliformes, toujours présentes, *l'acidophile de Moro*, qui, contrairement à l'opinion de Tissier, paraît être constant (tout au moins à Bucarest) dans les selles du nourrisson nourri exclusivement au sein, et encore d'autres espèces, anaérobies facultatives, non encore décrites et qui méritent d'être signalées.

La flore du nourrisson au babeurre[2] était très variée.

D'ailleurs, je dois répéter qu'il ne s'agissait pas, dans ce cas, d'un enfant absolument normal, car ce mode d'alimentation avait été imposé par des accidents dyspeptiques intenses, et l'enfant, quoique en apparence en bonne santé au moment de l'examen, avait encore des selles assez fétides.

De l'étude de ce cas, je tiens à relever une particularité fort intéressante, déjà énoncée par *Teixeira de Mattos*[3] chez les enfants nourris au babeurre : les espèces coliformes sont *uniquement* représentées par le *b. lactis aerogenes* d'Escherich. Bien que j'ai étudié un nombre considérable de colonies coliformes, il m'a été impossible d'isoler un seul colibacille. Le fait mérite d'être noté. Parmi les nombreuses espèces isolées de ce cas, je n'en décrirai qu'une seule qui m'a paru faire partie intégrante de la flore de ce nourrisson, car, dans 3 examens successifs, à plusieurs semaines de distance, je l'ai trouvée en abondance dans mes cultures.

Je diviserai cette note en 2 parties : dans une 1re partie je mentionnerai quelques particularités relatives aux espèces déjà connues; dans la 2e partie je décrirai des espèces ou variétés nouvelles.

Que MM. les professeurs *Proca* et *Sion* veuillent bien me permettre de leur témoigner ici ma reconnaissance pour l'aimable hospitalité qu'ils m'ont offerte au Laboratoire communal,

1. Tissier, Rech. sur la flore intestinale du nourrisson, *Th. de Paris*, 1900.
2. Pour ce mode d'alimentation voir mon travail : De l'alimentation des nourrissons avec le babeurre : *Arch. de Med. des Enfants*, janvier 1903.
3. Teixeira de Mattos, *Jahrbuch f. Kinderh.* 1902, vol. 55, p. 55

et les bons conseils qu'ils ont bien voulu me donner dans le cours de mes recherches.

I

Bacillus bifidus (Tissier)[1]. Ce bacille était de beaucoup prédominant dans les selles de nourrissons au sein. On le trouvait aussi, mais en abondance moindre, dans les selles de l'enfant au babeurre.

L'étude que j'ai faite des divers échantillons que j'ai isolés confirme dans ses grandes lignes la description de Tissier. J'ai cependant à noter quelques particularités :

1° L'opinion de Tissier que le B. ne pousse pas en gélose acide[2] me paraît inexacte. Les 5 échantillons que j'ai eu entre les mains poussaient également bien sur agar sucré profond acide (4 gouttes d'acide lactique pour un tube à essai de grande dimension contenant 25 c. c. de gélose). La croissance se fait seulement un peu plus lentement que dans le même milieu non acidifié.

Si j'insiste sur ce caractère, c'est qu'il permet, dans les cas à flore complexe, d'isoler le B. assez facilement : on sait que dans les milieux acides les espèces coliformes poussent mal et, quand elles poussent, ne donnent pas ou donnent peu de gaz.

Ce caractère acidophile du B. était d'ailleurs à prévoir, étant donnée la prédominance considérable de cette espèce dans les selles du nourrisson au sein, selles dont la réaction est toujours franchement acide à l'état normal[3].

2° Les colonies de B. ne sont lenticulaires qu'au début. Quand elles grandissent, on voit habituellement, sur l'une des faces de la lentille, pousser un prolongement perpendiculaire formant avec le plan de la lentille deux angles dièdres. On peut aussi voir pousser un prolongement analogue sur l'autre face : la colonie prend alors l'aspect d'une graine d'ombellifère.

Les colonies sont *compactes :* on peut les énucléer de la

1. TISSIER, *Loc. cit.*

2. ID., *Id.*, p. 94.

3. Dans un récent mémoire (*Ann. de l'Inst. Past.* 1905, p. 116) Tissier considère le *Bifidus* comme un ferment très actif des sucres à acidité d'arrêt. 3,43 à 4,90 (de SO^4H^2, p. 1,000); il reconnaît donc aussi que le *Bifidus* pousse en milieu acide.

gélose comme un bourbillon, ou encore les couper au bistouri sans les déformer — contrairement à d'autres colonies (entérocoque, par exemple) qui, piquées, se vident comme une poche remplie de liquide.

Les colonies de B. sont composées d'une masse granuleuse qui s'émulsionne très mal.

3° Sur agar sucré profond, coloré par le vert de malachite (3 gouttes d'une solution à 1 0/0 de vert malachite dans un tube de 30 c. c. d'agar), le B. ne pousse pas : ce procédé ne peut donc convenir pour les isolements.

4° Après divers essais, le milieu de culture *liquide de choix* m'a paru être le bouillon ordinaire auquel on ajoute, pour un tube à essai habituel (8-10 c. c. de bouillon), 2 c. c. d'une solution de glycose à 10 0/0 et 1 c. c. de lait.

Dans ce milieu la culture est rapide et abondante. Au bout de quelques jours, quand le milieu s'acidifie, le lait en suspension est coagulé et se précipite en flocons au fond du tube.

Il est intéressant de noter que, dans 3 essais successifs, j'ai obtenu des cultures *bien plus rapides* et *plus abondantes* en me servant, pour la préparation du milieu, de lait de femme stérilisé au lieu de lait de vache. Le fait mérite d'être encore vérifié.

5° Je n'ai pu faire pousser le B. ni sur gélatine ou agar à 20° ni sur agar sucré ou en milieu liquide à 45-50°.

6° Comme Tissier, je considère le B. comme un bacille strictement anaérobie quand il est pur; en symbiose il pousse parfois, quoique faiblement, même en milieux aérobies).

Mes recherches contredisent donc celles de *Passini* [1] qui affirme que le B. de Tissier pousse abondamment *en surface* sur agar sucré, même si l'anaérobiose est incomplète.

Bacillus acidophilus. — (*Moro*[2]), *Tissier* affirme qu'il n'a jamais pu trouver *le B. acidophilus* chez un enfant nourri exclusivement au sein et bien portant.

Contrairement à cette opinion et conformément à celle sou-

1. Passini, Ueber das regelmässige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaerobischen Buttersäurebacterien im normalen stuhle, *Jahrb. f. Kinderh.* vol. LVII, p. 87.

2. Moro, Ueber die nach gram färbbaren Bacillen des sanglings stuhles, *Wien. Klin. Wochenschft.* 1900, n° 5, et Ueber den Bacillus acidophilus, *Jahrb. f. Kind-* 1900, vol. LII, p. 38.

3. Tissier, *Loc. cit.*, p. 97.

tenue par *Moro* et *Cahn*, j'ai pu isoler des acidophiles dans les cinq cas que j'ai étudiés, dont 4 se rapportaient à des nourrissons *absolument bien portants* et nourris *exclusivement au sein*.

J'ajoute que dans deux de ces cas j'ai cherché les acidophiles dans le lait de la nourrice et que j'ai pu les isoler de ces laits.

Enfin, dans un de ces cas, j'ai fait un essai de numération comparative des espèces microbiennes. Je me réserve de publier le résultat de ces numérations quand j'aurai réuni un plus grand nombre d'observations, mais je puis dire dès à présent que, d'après le résultat de cette numération, l'acidophile était non seulement présent dans la selle, mais encore très abondant, quoique en moins grande quantité que le *Bifidus*; il s'agissait pourtant d'un enfant rigoureusement normal et exclusivement nourri au sein maternel[1].

C'est ici le lieu d'insister sur une particularité biologique de ce microbe, susceptible d'en faire méconnaître la présence :

Si l'on essaie de pratiquer l'isolement de l'A. en ensemençant doublement les selles sur milieu *solide* acide, sucré ou non, on n'obtient pas ou presque pas de colonies d'acidophiles. Ce microbe a besoin de se multiplier d'abord en milieu *liquide* acide, après quoi on peut le transporter sur milieu *solide*.

J'ai utilisé la technique suivante : la dilution de selles en bouillon est acidifiée avec 1 goutte d'acide lactique pour un tube habituel de bouillon (8-10 c. c.), on met à l'étuve et au bout de 24 heures on repique sur un 2e tube de bouillon acidifié avec 2 gouttes d'acide lactique. Le lendemain, on pratique l'isolement sur une série de tubes ou plaques d'agar acide sucré : l'acidophile pousse alors abondamment, souvent en culture pure ou presque pure.

Si les descriptions de *Moro* et de *Tissier* concernant l'acidophile sont assez analogues quant aux caractères culturaux, elles diffèrent sensiblement quant à la forme du bacille.

Tandis que *Moro* le décrit et le représente comme un bacille mince à extrémités légèrement pointues, souvent rangé en éléments parallèles, il se présente, pour *Tissier*, sous forme

1. Il est bien entendu que ces résultats ne concernent que les nourrissons observés à Bucarest ; il se peut qu'il en soit autrement à Paris.

d'un gros bacille trapu à extrémités arrondies *facilement reconnaissable dans les selles.*

Je ne puis accepter cette dernière assertion : je crois que, dans la majorité des cas, il est impossible, sur les frottis de selles, de distinguer l'acidophile du *bifidus;* en particulier, dans le cas cité plus haut, où j'ai pu, par une numération, acquérir la certitude que l'A. était en abondance, l'aspect des frottis de selles était absolument uniforme et il n'était pas possible de faire de distinctions parmi les éléments colorés par le gram.

Il est d'ailleurs fort probable, ainsi que l'a écrit *Moro*, que les selles normales contiennent non *un* acidophile mais *plusieurs variétés* d'acidophiles assez variables morphologiquement. Nous connaissions déjà les deux variétés décrites par *Moro* et *Tissier*.

Cahn[1] décrit 3 variétés de colonies d'acidophiles, *Weiss*[2], dans un récent travail, qui, il est vrai, ne paraît pas se rapporter spécialement aux selles du nourrisson, se livre à une étude particulière des acidophiles recueillis sur des cadavres et en divers points du trajet intestinal. Il a ainsi isolé 7 espèces acidophiles dont 4 bacilles et 3 coques.

Son *n°* 1 est un bacille sensiblement identique à celui de Moro-Finkelstein-Rodella, bien que *gazogène* (le bacille de Moro ne l'est pas).

Le *n°* 2 est un bacille court et gros, en lancette, surtout aérobie, il donne de l'indol et se rapproche, d'après l'auteur, du *lactis aerogenes* d'Escherich.

Le *n°* 3 est un bacille court et gros, droit ou légèrement ncurvé, il y a des formes courtes et longues, on le voit disposé en petits groupes, en chaînes, ou en filaments ; il est mobile et présente des analogies avec le bac. n° 1 de *Ciechomsky et Jakowsky*[3].

Le *n°* 4 est un bacille fin, allongé, filamenteux, ressemblant au bacille tuberculeux. Il est aérobie absolu, donne une pellicule à la surface du bouillon, *liquéfie la gélatine*, dissout l'albumine et donne de l'H^2S. Il se rapproche du *b. liquefaciens ilei* de *Macfayden*, *Nencki* et *Sieber*[4].

1. CAHN, Ueber die nach gram färbbaren Bacillen des Sänglingsstuhles, *Centralbl. f. Bakt*, 1901, Bd XXX, N° 19, p. 721.
2. HUGO WEISS, Zur Kenntniss der Darmflora, *Centralbl. f. Bakt.* XXXVI, p. 13.
3. CIECHOMSKI et JAKOWSKI, *Arch. f. Klin. Chir*, Bd LXVIII, 1894.
4. MACFAYDEN, NENCKI et SIEBER, *Arch. f. exp. Path. u Pharmak.* Bd XXVIII, 1894.

Le *n*° 5 est un gros diplocoque donnant de l'indol et ne coagulant pas le lait. On peut l'assimiler au gros diplocoque mobile n° 3 de *Ciechomsky* et *Jakowsky*. Il est identique au *diplococcus albus intestinorum*.

Le *n*° 6 est un très petit coque en courtes chaînettes. C'est un streptocoque *non liquéfiant*.

Enfin, le n° 7 est un staphylocoque moyen surtout aérobie, liquéfiant la gélatine d'une façon intense, analogue au *staphylocoque blanc liquéfiant d'Escherich*.

*Toutes ces variétés d'Acidophiles décrites par Weiss prennent le gram — aucune n'est pathogène — aucune ne donne de spores. Enfin quelques-unes de ces variétés sont très acidophiles : aussi les n*os *2, 3, 4, 5, poussent dans un bouillon acide à 5 0/0 d'acide acétique.*

Et ce n'est pas encore tout pour ce qui concerne les acidophiles : *Escherich*[1], *Finkelstein*[2] attribuent à certaines variétés d'acidophiles son rôle pathogène dans certaines entérites.

Cahn[3] prétend avoir trouvé l'A. dans les organes et même le cœur d'enfants ayant succombé à des gastro-entérites.

Enfin *Salge*[4], dans un récent travail, étudiant la flore de certaines gastro-entérites où prédominent les symptômes d'ordre toxique, trouve l'aspect des frottis absolument analogue à celui des selles normales, et dans les cultures il isole un acidophile. Comme on ne peut admettre que, dans une aussi profonde altération des voies digestives, la flore reste inaltérée, il suppose que l'acidophile isolé dans ces cas doit être différent de l'acidophile normal. Mais toutes les tentatives qu'il a faites pour démontrer l'action pathogène de ce microbe sont restées sans résultat et il n'a pu trouver que des différences tout à fait insignifiantes d'avec l'acidophile habituel.

Salge paraît d'ailleurs mal au courant de la question de la flore normale : il ne fait aucune mention du *bifidus* et paraît croire que c'est l'acidophile qui est l'espèce principale des selles normales, or il est précisément fort possible que dans

1. Escherich, Epidemisch auftretende Brechdurchfälle in Säuglings-spitelern, *Jahrb, f. Kinderh.* vol. LII, p. 1.

2. Finkelstein, Ueber Säureliebende Bazillen im Säuglingsstuhl, *Deutsche medic. Wochenschr.* 1906, n° 16.

3. Cahn, *Centralb. f. Bakt*, 1901, *Loc. cit.*

4. Salge, Ein Beitrag zur Bakteriologie des Enterokatarrhs, *Jahrb. f. Kind.* 1904, vol. LIX, p. 399.

les gastro-entérites en question il y ait substitution de l'*Acidophile* qui est *très* acidorésistant, au *Bifidus* qui l'est beaucoup moins, les selles de ces malades étant en général d'une acidité très marquée. — Ce point mériterait une étude particulière.

Pour mon compte, j'ai eu entre les mains 3 échantillons d'acidophiles, assez variables morphologiquement et très analogues au point de vue cultural :

1° Un bacille gros, court, trapu, à bouts carrés, habituellement disposé en assez longues chaînes ;

2° Un bacille mince à extrémités arrondies, non groupé en chaînes, mais disposé en séries de plusieurs éléments parallèles — rarement on voit 2 ou 3 bacilles bout à bout ;

3° Un bacille *très court* qui est à la variété de Moro ce que le diphtérique court est au diphtérique commun.

Ces trois formes ont persisté non modifiées dans les divers repiquages, mais les caractères culturaux étaient identiques dans les 3 variétés et répondaient très exactement à la description de Moro : je crois inutile d'y insister. Je vais seulement noter quelques particularités que j'ai observées.

a) Contrairement à certaines descriptions (Moro), les échantillons que j'ai isolés ont tous parfaitement poussé en gélatine à 20°, soit en surface, soit en profondeur. — Je me suis servi de gélatine *sucrée*. — Dans aucun cas la gélatine n'a été liquéfiée.

b) Les acidophiles que j'ai isolés ne poussent pas en agar teinté de vert malachite, que le milieu soit ou non sucré (1 goutte de la solution de vert malachite à 1 0/0, pour un tube contenant de 8 à 10 c. c. de bouillon).

c) D'après Moro, dans les milieux liquides l'A. perd sa colorabilité par le gram en 2 à 6 jours.

J'ai trouvé ce caractère très variable : dans un cas, la perte de la colorabilité par le gram était à peu près nulle ; même dans les cultures vieilles de 15 jours et plus, les éléments bacillaires se coloraient presque tous. Mais dans tous les autres cas on observait une perte plus ou moins rapide de la colorabilité par le gram, plus accentuée en milieux liquides, mais se montrant aussi en milieux solides.

1. Tissier et Gasching, Rech. sur la fermentation du lait, *Ann. Inst. Past.* 1903, p. 546.

Sans doute il s'agit là, comme le dit Tissier[1], d'un phénomène banal de vitalité moindre de certains éléments, mais ce phénomène paraît ici plus accusé qu'ailleurs : déjà, au bout de 24 heures de culture, on trouve souvent un *grand nombre* d'éléments décolorés, au point que, si on n'est pas prévenu, on peut croire qu'on a affaire à un mélange de deux espèces bacillaires.

d) En bouillon additionné de savon médicinal l'A. pousse bien. Au bout de 48 heures environ, le bouillon, d'abord troublé, se clarifie, et il se fait un abondant dépôt floconneux au fond du tube[2]. *Salge*[3] a bien étudié ce qui se passe dans ces cas.

D'après lui, les milieux contenant des substances grasses favorisent le développement des acidophiles (tout au moins de l'A. qu'il a isolé de certaines entérites).

Si l'on utilise du bouillon auquel on ajoute de l'oléate de soude, il se fait une culture abondante, le bouillon se trouble, et au fond du tube se précipite un dépôt floconneux. — Si on centrifuge, on constate que le bouillon ne contient plus ni oléate de soude ni acide oléique, mais un mélange d'acides propionique et butyrique : il y a eu décomposition de l'acide oléique et formation d'acide gras inférieurs.

e) Relativement aux variétés de forme dans les cultures, elles sont considérables suivant les milieux employés, comme l'a bien vu Tissier : formes courtes, longues, filaments, formes en massue. Mais, bien que j'aie expérimenté un grand nombre de milieux, et que j'aie pu obtenir des formes dégénératives très anormales (virgules, massues etc.), je n'ai jamais observé de ramifications *vraies*, même avec la « wasser-cultur » exécutée scrupuleusement d'après la technique de Moro. — Les formes les plus anormales m'ont été fournies dans les milieux savonneux.

II

Bacillus pseudodiphtericus gazogenes. (Espèce nouvelle.) Ce bacille a été isolé des selles d'un nourrisson de 5 mois alimenté exclusivement au sein maternel.

1. Je rappelle qu'il s'agit là d'une réaction commune à beaucoup d'espèces microbiennes, et non d'un caractère particulier à l'acidophile.
2. Salge. *Loc. cit.*

Une dilution de selles, en bouillon, a été portée rapidement à l'ébullition puis refroidie et mise à l'étuve. — Au bout de 4 jours, j'ai fait, avec cette dilution, des ensemencements sur agar sucré et c'est ainsi que j'ai obtenu, à l'état de pureté, l'espèce que je vais décrire :

C'est un *bacille* ayant les dimensions du diphtéritique, droit, à extrémités arrondies et parfois épaissies en forme de massue. — Les éléments bacillaires sont généralement isolés et présentent des dispositions en V analogues à celles du diphtérique. Dans *une seule* de mes cultures, vieilles de 10 jours, en agar sucré, les bacilles étaient disposés en chaînes, affectant l'aspect streptobacillaire. Cet aspect n'a pas persisté dans les repiquages.

Ce bacille *prend le gram* d'une façon intense et uniforme dans les cultures jeunes. — Dans les cultures vieilles de quelques jours, on voit de nombreux éléments décolorés comme dans les cultures d'acidophiles.

Jamais je n'ai pu noter de ramifications vraies. Ce bacille ne donne *pas de spores*.

Sur *agar sucré* incliné ce bacille cultive abondamment. Au bout de 24 heures on voit à la surface de l'agar de très nombreuses colonies plates absolument transparentes, en gouttes de rosée, très régulièrement arrondies, ayant environ 1/2 millimètre de diamètre. — Au bout d'une huitaine de jours, les bords des colonies se dentèlent et de ces bords on voit pousser des prolongements, sous forme d'arborisations élégantes, tandis que le centre de la colonie devient jaunâtre et légèrement acuminé.

En *agar sucré profond*, il se développe, au bout de 12 heures, d'abondantes colonies fines, blanchâtres, floconneuses, irrégulières, respectant au début la zone aérobie. *Il y a une abondante production de gaz* qui fragmente l'agar sur toute sa hauteur.

En *bouillon glycosé* on obtient en 24 heures une riche culture. Il se fait au fond du tube un dépôt blanchâtre abondant. Le bouillon reste clair. La culture dégage une légère odeur de fromage aigri.

En *agar et bouillon non glycosé* le pseudodiphtérique pousse aussi mais la culture est beaucoup plus pauvre.

Sur *agar sucré acide, il se refuse absolument à pousser*, même si l'acidification est très légère.

Sur *gélatine inclinée à 20°*, *sur pomme de terre à 37°*, *sur sérum de Lœffler à 37°* je n'ai pas pu obtenir de culture.

Sur *gélatine sucrée profonde à 20°*, le bacille pousse en 5 à 6 jours, en donnant des colonies sphériques sans prolongements, légèrement brunâtres, atteignant jusqu'à 1/2 millimètre de diamètre.

En *gélatine-piqûre* la culture réussit plus difficilement. Les colonies se développent le long du trait de piqûre.

Sur *lait* la culture est abondante. Le lait tournesolé vire au rouge en 24 h., mais la coagulation ne se fait pas, même à la longue. — Au bout de 25 jours le lait tournesolé revire au bleu.

La *vitalité* de cette espèce m'a paru faible. — Au bout de 10 à 12 jours les cultures ne sont généralement plus vivantes. — Cependant j'ai pu une fois obtenir un résultat positif en repiquant une culture en lait de 28 jours.

L'*action pathogène* de ce microbe paraît nulle : elle a été essayée sur une souris blanche et sur un lapin : malgré de fortes doses injectées, les animaux n'ont nullement souffert.

Cette espèce doit être classée dans le groupe des pseudodiphtériques, à côté de l'acidophile dont elle diffère par ses caractères culturaux, par la production de gaz et par l'impossibilité de pousser en milieu acide.

Elle se rapproche beaucoup du *B. exilis* de Tissier dont elle diffère surtout par la production de gaz et la non coagulation du lait.

Elle se rapproche aussi de l'espèce IV de Rodella [1] dont elle se distingue surtout parce que cette espèce liquéfie la gélatine et qu'elle est anaérobie.

En résumé, il s'agit ici d'une variété de pseudodiphtérique, groupe pour lequel l'intestin paraît être un milieu de choix, à en juger par les nombreuses variétés qu'on y rencontre (*acidophiles*, *exilis*, variétés IV, V, VI, de Rodella etc...)

Bacillus nebulosus gazogènes [2]. (Espèce nouvelle.) Ce bacille a été isolé des selles d'un enfant antérieurement dyspeptique et

1. Rodella, *Zeitsch. f. Hyg.* 1902.
2. Une culture de ce bacille a été déposée en juin 1904 chez Kral, à Prague.

a imenté exclusivement au babeurre. Il faisait partie de la flore habituelle de ce nourrisson, car il a été retrouvé en assez grande abondance dans 3 examens faits à 1 mois de distance.

Il a été obtenu en chauffant des dilutions de selles à 80° pendant 3, 5 et 8 minutes (procédé de Rodella). En ensemençant en agar profond la dilution chauffée pendant 8 minutes, nous avons obtenu le microbe en question. Il s'agit d'un *bacille, anaérobie facultatif, gazogène*, allongé, d'environ 3 à 5 μ, droit à extrémités arrondies.

Il est *immobile*. Il se *décolore complètement par le gram.*

Dans les diverses cultures, il présente un polymorphisme assez maigre, surtout quand les cultures sont quelque peu vieillies : on observe alors des formes longues, les unes droites, les autres légèrement incurvées, et aussi des filaments. On peut aussi voir quelques ramifications *vraies*, mais cela exceptionnellement.

Pas de spores.

Sur agar simple incliné, il cultive en 24 heures en donnant d'assez grandes colonies (de 1/2 millim. environ de diamètre) en forme de « cachet », c'est-à-dire à centre bombé entouré d'une collerette plate. Ces colonies sont transparentes, à peine légèrement opalines.

Les jours suivants, la colonie s'aplatit, tout en s'agrandissant jusqu'à 1 millim. et plus de diamètre; en même temps, son centre devient finement granuleux. Enfin, elle finit par devenir invisible. Au niveau des colonies on voit souvent quelques bulles de gaz dans l'épaisseur de l'agar.

En *bouillon peptonisé*, le bouillon se trouble au bout de 48 heures, il s'éclaircit de nouveau, et au fond du tube se précipite un léger dépôt pulvérulent. La culture dégage une légère odeur butyrique.

La croissance se fait identiquement, que l'on pratique ou non l'anaérobiose.

Pas d'indol dans la culture, pas même au bout de 15 jours.

L'acidification du bouillon est déjà évidente au bout de 24 heures.

Le lait est coagulé vers le 5e jour. Pas de peptonisation.

Sur *pomme de terre* on n'observe pas de culture.

La culture sur *agar profond sucré* est absolument *caractéristique* :

les colonies ont l'aspect de flocons, de boules d'ouate, blanchâtres, arrondies, ayant 2 à 4 millimètres de diamètre. Le centre du flocon est constitué par un noyau plus opaque que la périphérie qui est demi-transparente. A la loupe, on distingue, dans la zone transparente, de fines et élégantes arborisations à disposition rayonnante.

Le développement de cette culture est accompagné d'un abondant dégagement de gaz qui fragmente l'agar.

Au début, la surface du tube (zone de l'aérobiose) est respectée; ce n'est que dans la suite que les colonies l'envahissent aussi.

Si l'agar est quelque peu caramélisé, on ne voit plus d'arborisations et toute la colonie représente un nuage, une sorte de halo demi-transparent avec un centre à peine un peu plus dense.

En *agar profond ensemencé par piqûre*, ce bacille pousse abondamment sur le trajet du trait d'ensemencement; on voit tout le long un chapelet de bulles de gaz.

Sur gélatine profonde à 20°, il pousse bien en 3 à 4 jours, en donnant des colonies régulièrement arrondies et un peu brunâtres. *Pas de liquéfaction.*

Sur gélatine inclinée sucrée (aérobiose), on voit une assez abondante culture constituée par de fines colonies complètement transparentes, à contour assez irrégulier, bien que généralement arrondies.

Sur sérum de Löffler pas de culture apparente.

L'action pathogène de cette espèce paraît nulle. J'ai injecté 10 c.c. de culture en bouillon de 24 heures dans le péritoine d'un lapin, sans aucun résultat.

J'ai injecté 1/10 de c.c. du dépôt d'une culture du bouillon dans le péritoine d'une souris, sans que l'animal éprouve aucun trouble.

Je n'ai trouvé cette espèce décrite nulle part. *Le bacille n° 1 de Rodella*[1] donne bien une culture analogue en tubes profonds, mais il s'agit d'une espèce, colorable par le gram, donnant des spores, peptonisant le lait.

Le bacille n° 1 de Weiss[2] se rapprocherait plus ou moins du

1. Rodella, *Zeitschr. f. Hyg.* 7 févr. 1902.
2. Weiss, *Centralblatt*, XXVI, p. 16.

nôtre, mais il se colore bien par le gram, pousse sur pomme de de terre et ne pousse pas sur gélatine.

Coccobacillus minutissimus gazogènes[1]. (Espèce nouvelle.) Cette espèce paraît être assez fréquente. Je l'ai rencontrée 2 fois dans les selles d'enfants nourris exclusivement au sein, et 1 fois chez le nourrisson alimenté au babeurre. Ce microbe est habituellement en symbiose avec des espèces banales dont il est souvent fort difficile de l'isoler.

C'est un très fin coccobacille, à peine un peu plus long que large, mesurant environ 0μ.3 à 0μ.5, groupé comme un staphylocoque en grappes; ces grappes sont *cohérentes et difficiles à dissocier*. Il ne varie pas de forme. Il est *immobile*.

Il se colore en général mal par les colorants habituels et *se décolore complètement par la méthode de Gram*. C'est *surtout un anaérobie*. Il tient le milieu entre les anaérobies facultatifs et les anaérobies stricts, en ce sens qu'il ne pousse pas sur les milieux aérobies, mais pousse même quand l'anaérobiose est relative.

Il est *gazogène*.

L'agar sucré profond est le milieu de choix.

On commence à voir les colonies au bout d'environ 36 heures. Ces colonies grandissent en 3 à 4 jours, acquièrent des diamètres de 1/4 et 1/2 millimètre. Elles sont blanches, opaques et de forme très irrégulière (angulaires, à facettes, bosselées, etc...). L'agar est fragmenté par de nombreuses bulles de gaz non fétide. A la surface de la colonne il y a constamment une zone d'environ 1 centim. respectée par la culture (zone de l'aérobiose).

En *agar incliné glycosé avec anaérobiose*, il pousse très mal, très pauvrement et pas toujours. Cependant, les rares colonies, qui poussent atteignent d'assez fortes dimensions (1 millim. diamètre). Elles sont régulièrement arrondies, opalinées et surélevées. On voit de grosses bulles de gaz dans la profondeur de l'agar, en regard des colonies qui ont poussé. Le liquide de condensation contient au fond quelques flocons mais reste clair.

En *agar incliné glycosé sans anaérobiose*, il ne se fait pas de culture, excepté dans le liquide de condensation (dépôt floconneux). Au niveau de ce liquide floconneux on voit, dans l'épaisseur de l'agar, une bulle de gaz, mais le reste du tube reste stérile.

1. Un échantillon de ce coccobacille a été déposé en juin 1904 chez Kral.

En *agar sucré profond acide* pas de développement.

En *bouillon sucré* on obtient une culture pauvre si on ne pratique pas l'anaérobiose, beaucoup plus abondante si on la pratique.

Au bout de 24 h., il se dépose au fond du tube un amas de fins grumeaux; chacun d'eux étant constitué par un amas cohérent de coccobacilles fort pénible à dissocier. Le bouillon reste clair à la surface.

La culture *ne dégage pas d'odeur*.

Il n'y a *pas de production d'indol*.

L'acidification du milieu est très faible; à peine peut-on la constater vers le 4e jour.

Le *lait* n'est pas coagulé, même au bout de 40 jours.

En *milieux anaérobies non sucrés* (agar profond, bouillon), le développement se fait aussi, mais moins bien qu'en milieux sucrés. Il y aussi abondante production de gaz.

En *agar profond en piqûre*, le développement se fait bien sur le trajet du trait d'ensemencement; tout le long on voit un chapelet de bulles gazeuses.

En *gélatine, sucrée ou non, en tube profond*, il ne se fait *aucune culture*.

La *culture en bouillon* sans anaérobiose est très abondante, si en culture le coccobacille en symbiose avec un staphylocoque; mais sur *milieux solides*, malgré la symbiose, il n'y a pas de culture.

L'*action pathogène* de ce coccobacille paraît nulle. Ni 7 c.c. de culture en bouillon sucré injectés dans le péritoine d'un lapin, ni 1/10 de c.c. de la même culture dans le péritoine d'une souris n'ont provoqué de symptômes morbides.

Ce *coccobacille* ressemble à l'une des espèces (n° 6) figurées par *Weiss* (*loc. cit.* p. 17); mais ce dernier coccobacille est acidophile et prend bien le gram (n° 9), il ne donne pas de gaz, et pousse aussi en milieux aérobies.

Notre *coccobacille* me paraît aussi différent du *coccobacillus anaerobius perfœtens* de Tissier (*loc. cit.* p. 70). Cette espèce a des dimensions plus grandes (0,8 à 1 μ), elle se colore facilement par les colorants basiques, ne présente pas cette disposition constante et caractéristique en grumeaux incohérents, et surtout dégage des gaz extrêmement fétides.

Le *staphilococcus parvulus* de Veillon et Zuber pousse à 22, 23° et donne en gélatine des colonies caractéristiques opaques, brunâtres et granuleuses, il donne également des gaz fétides et est pathogène pour le cobaye et le lapin.

Bacillus intestinalis tuberculiformis[1]. (Espèce nouvelle.) Ce bacille a été isolé dans tous les cas que j'ai étudiés (4 enfants au sein exclusivement, et 1 au babeurre). J'examinerai plus loin son mode d'isolement et la très intéressante question de ses analogies avec le *bifidus*.

C'est un très fin bacille, *immobile*, ayant les dimensions et l'aspect général du bacille tuberculeux; il *se colore par le gram, mais d'une façon inégale* (espaces clairs) comme le bacille diphtérique et sa colorabilité persite même dans les cultures plus anciennes (15 jours), bien que l'on rencontre, dans ce dernier cas, un assez grand nombre d'éléments décolorés.

Il ne se colore pas par la méthode de Ziehl.

Il présente un *polymorphisme* assez accusé : dans la même culture on voit, à côté d'éléments typiques, d'autres courts comme des coccobacilles et aussi des formes très allongées. Les bacilles se disposent souvent par deux, bout à bout, et même parfois on en voit 3 à la file. En ce cas, les éléments présentent souvent des directions différentes de sorte que les formes en V sont très fréquentes. Les extrémités des bacilles sont généralement pointues.

Parfois, l'aspect est encore plus anormal: on trouve alors des formes incurvées en virgule, ou en V, ou des diplobacilles en S.

Les formes en massue, en point d'exclamation, ne sont pas rares, et on trouve souvent des *ramifications vraies*. Mais ces ramifications ont un aspect tout différent de celle du *bifidus ;* il n'y a jamais plus d'une branche, et elle paraît généralement latérale; les ramifications sont fines et allongées, et souvent très inégales, tandis que chez le bifide elles sont courtes, trapues, habituellement égales et presque toujours renflées à leur extrémité.

Ce bacille ne donne *pas de spores.*

Il est *presque exclusivement anaérobie.*

Son milieu de choix est l'*agar profond sucré.* La culture

1. Une culture de ce bacille a été déposée en juin 1904 chez Kral.

débute au bout d'environ 36 heures, mais n'est bien développée que vers la 48e heure.

Les colonies sont blanc opaque, fixes, tout d'abord irrégulières au moment où elles commencent à poindre, puis lenticulaires. Elles atteignent, au bout de quelques jours, jusqu'à 1 millim. et plus de diamètre et, quand elles sont âgées, on voit souvent pousser, sur une face de la lentille ou même sur chacune des faces, un prolongement en forme de demi-lentille dont le plan est perpendiculaire à celui de la lentille primitive ; on a alors l'aspect d'une graine d'ombellifère.

La zone aérobie de la surface du tube est toujours respectée. Il n'y a pas de dégagement de gaz.

En *bouillon glycosé* avec anaérobiose, ce bacille pousse bien, en 48 heures environ ; le bouillon se trouble d'abord puis se clarifie et au fond du tube on voit un assez abondant dépôt finement grumeleux qui adhère aux parois du tube. Dans les vieilles cultures, ce dépôt prend une teinte *rose* très accusée.

La culture en bouillon dégage une légère odeur aigrelette.

L'acidification du milieu est rapide et intense ; elle donne, au bout de quelques jours, avec la teinture de tournesol, une coloration rouge vin de Bordeaux.

Si l'on *ne pratique pas l'anaérobiose*, la culture en bouillon se fait tout de même, mais elle est beaucoup plus pauvre.

Sur lait il n'y a pas de développement apparent.

Sur pomme de terre non plus.

Sur bouillon glycosé additionné de lait, la culture se fait comme en bouillon, le lait finit par être précipité, au bout d'une vingtaine de jours, sous forme de flocons.

Sur agar profond en piqûre le développement se fait bien tout le long du trait, excepté dans la zone de l'aérobiose qui finit cependant aussi par être envahie à la longue.

Sur gélatine glycosée ensemencée à l'état liquide ou en piqûre, à 20°, il n'y a pas de croissance.

Sur agar incliné glycosé, sans anaérobiose, la culture est inconstante mais caractéristique. On ne peut l'obtenir toujours ; il faut faire un ensemencement abondant, massif, de préférence, en écorchant superficiellement l'agar.

Au bout de 36 heures environ, on voit le liquide de conden-

sation se troubler, puis il se forme au fond quelques grumeaux, tandis que la surface de l'agar paraît rester stérile.

Ce n'est qu'au bout d'environ 10 *jours* que l'on voit se développer, à la surface de l'agar, de rares et fines colonies d'un blanc opaque, très bombées, en 1/2 sphère, et d'aspect crémeux.

Ces colonies se développent exclusivement aux environs de la surface du liquide de condensation, ou encore autour des colonies anciennes exposées à la surface de l'agar par l'ensemencement, comme autant de satellites.

Les jours suivants elles grandissent en se surélevant de plus en plus et finissent par atteindre 1 millim. et plus de diamètre. Elles sont d'un blanc éclatant, crémeuses, gluantes et entourées au début d'une mince collerette muqueuse demi-transparente qui disparaît dans la suite. En vieillissant, elles prennent généralement une teinte rose très accusée. Dans cette culture aérobie prédominent les formes courtes. En repiquant ces colonies sur agar profond, on obtient la culture caractéristique décrite plus haut.

Comme on le voit, il s'agit ici d'une espèce très particulière.

La description précédente est basée sur l'étude de 5 échantillons de source différente qui se sont montrés tous semblables. La *vitalité* de ce bacille est assez grande. J'ai pu le repiquer après 15 jours et même 3 semaines.

Le bacillus tuberculiformis ne paraît pas être pathogène : une culture entière de ce bacille a été injectée dans le péritoine d'un lapin : le lapin n'a présenté aucun signe de maladie.

1/10 de c. c. de dépôt d'une culture en bouillon a été injecté dans le péritoine d'une souris sans aucun résultat. Cette dernière expérience a été répétée avec chacun des 5 échantillons que j'ai eu entre les mains, toujours avec le même résultat négatif.

Le *b. tuberculiformis intestinalis* est intéressant à plus d'un point de vue. Tout d'abord nous l'avons rencontré 5 fois sur 5 examens de selles : C'est donc une forme très fréquente, sinon constante. Mais s'agit-il bien là d'une *espèce* nouvelle ? L'analogie d'aspect des colonies en agar profond de cette espèce et du *bifidus* est telle, qu'il est absolument impossible de les distinguer, et ce n'est que grâce à un hasard que j'ai pu isoler ce bacille : Je conservais une culture de *bifidus* de mon cas I, que

je repiquais tous les 8 jours. J'étais persuadé de la pureté absolue de cette culture, attendu que les repiquages étaient faits chaque fois avec une colonie unique préalablement vérifiée. Au bout de 3 mois de repiquages successifs, je songe à réensemencer mon bifide et quand je veux le repiquer il ne pousse plus : alors je fais un nouvel essai de repiquage en prenant à la fois une grande quantité de colonies pour avoir plus de chances de trouver encore quelques microbes vivants. Or, dans le tube d'agar ainsi ensemencé, il ne pousse que deux colonies et ces colonies étaient constituées par le *tuberculiformis*. J'ai conservé cette espèce. Quelque temps après, il m'arriva exactement la même chose avec le *bifidus* de mon cas II.

Dans mon cas III, le *T.* a été isolé d'une dilution de selles que j'avais conservée pendant un mois, puis chauffée à 80° pendant 5 minutes.

On peut donner à ces faits deux interprétations :

a) Ou bien les cultures que je possédais n'étaient pas des cultures pures de *bifidus*, et dans ce cas on doit admettre qu'il existait une symbiose très intime, des *colonies mixtes*, puisque mes cultures avaient été obtenues toujours par repiquage d'une colonie *unique*. Le *tuberculiformis* ayant une viabilité plus longue que le *bifidus* a seul persisté quand j'ai tardé à faire le repiquage;

b) Ou bien le *tuberculiformis* n'est qu'une transformation du *bifidus*.

Cette deuxième interprétation me paraît cependant très difficile à admettre, attendu que les deux bacilles présentent des différences très marquées :

1° Leur forme, les caractères de leurs ramifications sont très différentes (voir plus haut);

2° L'un est anaérobie absolu, strict, l'autre anaérobie relatif;

3° La très caractéristique culture en agar aérobie qui est spéciale au *tuberculiformis;*

4° La vitalité plus longue du *tuberculiformis*.

J'ai fait de nombreux essais pour transformer le *tuberculiformis* en *bifidus*, mais j'ai toujours échoué.

Une autre raison m'empêche de considérer le *tuberculiformis* comme une forme de vieillissement du *bifidus :* c'est que dans mes cas IV et V j'ai pu isoler le premier *directement* des selles. J'ajoute que, chez une femme adulte, je l'ai retrouvé avec ses

caractères typiques dans la matière caséeuse d'une amygdalite lacunaire.

Je pense cependant que ce point mérite de nouvelles recherches et cela d'autant plus que *Passini* (*loc. cit.*) soutient que le *bifidus* est un anaérobie *relatif*. — A-t-il eu entre les mains des cultures mixtes de *bifidus* et de *tuberculiformis*, ou bien est-ce que le *bifidus* peut dans certaines conditions se transformer et s'adapter à des milieux non rigoureusement privés d'air?



1. *Coccobacillus minutissimus gazogenes*. — 2. Bacille acidophile (variété courte). — 3. Pseudo-entérocoque anaérobie. — 4. *B. pseudo-diphtericus gazogenes* — 5. *B. nedubulosus gazogenes*. — 6. *B. nebulosus gazogenes* (variété longue). — 7. *B. intestinalis tuberculiformis*. — 8. Quelques formes anormales de *B. intestinalis tuberculiformis*.

Avant de terminer, je veux signaler une espèce que j'ai eu entre les mains, mais que je n'ai pu étudier complètement, les cultures étant mortes au bout de quelques jours.

	MOBILITÉ	Colorabilité.	MODE de vie.	Température.	FORME	CULTURE en agar incliné	CULTURE en agar profond. Développement de gaz.
Pseudo-diphtericus gazogenes	O	Col. par le *gram* ; nombreux éléments décolorés dans les vieilles cultures.	Aérobie et anaérobie.	37° 20°	Bacille présentant les dimensions, la forme et les dispositions du b. diphtérique.	En 24 heures, fines colonies plates et transparentes, en gouttes de rosée.	En 24 heures, fines colonies blanchâtres, floconneuses, irrégulières La zone de l'aérobiose est respectée au début. Abondante production de gaz.
Bacillus nebulosus gazogenes	O	Décoloré par le *gram*.	Facultatif. Plus anaérobie qu'aérobie.	37° 20°	Bacille de 3 à 5 μ, à extrémités arrondies. Polymorphisme marqué : formes allongées et filamenteuses. quelques ramifications vraies.	En 24 heures, grandes colonies plates, transparentes, d'environ 1/2 millimètre de diamètre.	Colonies caractéristiques en *boules d'ouate* de 2 à 4 mil. de diamètre, à centre plus opaque. Zone de l'aérobiose au début respectée. Abondante production de gaz.
Bacillus minutissimus gazogenes	O	Décoloré par le *gram*. Prend mal les colorants habituels.	Surtout anaérobie. Pousse aussi, mais mal en anaérobiose relative.	37°	Très fin coccobacille de 0μ,3 à 0μ,5, en grappes. Les éléments sont groupés en grumeaux difficiles à dissocier.	Ne pousse que si on pratique une anaérobiose relative et encore très pauvrement. Colonies arrondies, opalines et surélevées. Bulles de gaz dans la profondeur de l'agar.	En 36 heures, fines colonies blanc.-opaques, irrégulières. Zone aérobie respectée. L'agar est fragmenté par de nombreuses bulles de gaz.
Bacillus intestinalis tuberculiformis.	O	Coloré, mais inégalement par le *gram*. Non coloré par la méth. de Ziehl.	Anaérobie. Pousse à peine en aérobiose.	37°	Très fin bacille ayant les dimensions et l'aspect général du bacille tuberculeux. Polymorphisme: éléments courts, filaments. Eléments incurvés en V et S. Formes atypiques en massue et ramifications vraies.	Culture inconstante. Le liquide de condensation cultive en 36 h. A la surface de l'agar, la culture ne se voit que vers le 10e jour. Colonies blanches, arrondies, demi-sphériques, d'aspect crémeux, devenant *roses* quand elles vieillissent.	Culture de 36-48 h. Colonies blanc., opaques, lenticulaires ou en graines d'ombellifère, absolument semblables à celles du *Bifidus*.
Pseudo-enterocoque (étudié incomplètement).	=	Coloré par le *gram* d'une façon intense.	Anaérobie. Aérobiose ?	37° 20°	Coccus en flammes de bougie, le plus souvent groupés en diplocoques. Pas de capsule.	N'a pas poussé.	En 24 heures, colonies blanc.-opaques, lenticulaires, sans halo. Zone de l'aérobiose est respectée.

CULTURE en bouillon sucré.	CULTURE en gélatine sucrée.	CULTURE sur lait.	Culture s. pomme de terre.	FRÉQUENCE	ACTION pathogène.	Sporulation.	PARTICULARITÉS
En 24 heures, riche culture. Dépôt abondant au fond du tube. Le bouillon reste clair. Légère odeur de fromage aigri. Acidification très légère.	Ne pousse qu'en gélatine profonde. Colonies sphériques. *Pas de liquéfaction.*	Culture abondante. *Pas de coagulation.*	O	1 fois sur 5 examens.	Nulle.	O	Ne pousse absolument pas en milieux acides. A été isolé des selles d'un enfant au sein maternel.
Bouillon troublé en 24 heures. En 48 heures dépôt au fond. Légère odeur butyrique. Pas d'indol. Acidification assez rapide.	En *gélatine profonde*, donne des colonies sphériques en 3-4 jours. En *gélatine inclinée*, de fines colonies absolument transparentes. *Pas de liquéfact.*	*Coagulé* vers le 5e jour. Pas de peptonisation.	O	1 fois sur 5 examens.	Nulle.	O	A été isolé à 3 reprises des selles du même enfant, alimenté au babeurre.
Pousse assez bien, si on pratique l'anaérobiose. Dépôt fin au fond du tube, bouillon clair dessus. Ni odeur, ni indol. Acidification à peine marquée.	O	*Non coagulé.*	O	3 fois sur 5 examens.	Nulle	O	A été isolé chez 2 enfants au sein et chez un enfant au babeurre.
Pousse surtout si on pratique l'anaérobiose. Bouillon, d'abord trouble, se clarifie : au fond, dépôt granuleux, qui dans les vieilles cultures devient rose. Odeur aigrelette. Pas d'indol. Acidification *intense*	O	O	O	5 fois sur 5 examens.	Nulle.	O	A été isolé chez 5 enfants dont 4 au sein et 1 au babeurre. Il présente de nombreuses analogies avec le *Bifidus*. Le milieu de culture liquide de choix est le bouillon glycosé auquel on ajoute du lait de femme. Le lait est à la longue précipité en flocons au fond du tube.
	Au bout de 8 jours, colonies sphériques. *Pas de liquéfaction.*	O	O	1 fois sur 5 examens.	?	ll	Cette espèce a été perdue dans le cours des recherches. Bien que les tubes aérobies soient restés stériles, il est néanmoins probable qu'il est anaérobie facultatif, puisqu'il pousse sur agar profond en 24 heures, ce qu'aucun anaérobie strict ne fait.

Il s'agit d'un *Pseudo-entérocoque*, isolé des selles d'un enfant alimenté au babeurre, après chauffage d'une dilution de selles à 80° pendant 8 minutes. Il se présente sous la forme d'un diplocoque *non capsulé*, à grains allongés en flamme de bougie : l'allongement des grains est même plus accentué que dans l'entérocoque. On trouve aussi quelques *cocci* isolés.

Ce diplocoque se colore par le gram d'une façon *intense*. Les tubes aérobies ensemencés sont restés stériles.

En *agar profond sucré*, les colonies se voient déjà au bout de 24 heures. En 48 heures, elles sont complètement développées, opaques, lenticulaires, *sans halo* d'environ 1/2 millimètre de diamètre.

La *zone de l'aérobiose* est respectée.

En *gélatine profonde* sucrée, il pousse lentement, donnant au bout de 8 jours des colonies sphériques pouvant atteindre jusqu'à 1/2 millimètre. La gélatine n'est pas liquéfiée.

A mon grand regret, je n'ai pu pousser plus loin l'étude de cette forme. Sa vitalité étant très restreinte, mes repiquages sont restés stériles.

En terminant l'exposé de ces notes, je dois encore une fois faire remarquer que la présence, dans l'intestin du nourrisson normal, des espèces décrites par moi, ne contredit en rien la façon de voir de Tissier : le *bifidus* reste l'espèce de beaucoup prédominante dans les selles du nourrisson normal au sein : à l'examen des frottis de selles, on ne voit pas autre chose. Les espèces que j'ai isolées en *cultures* sont inconstantes et, quand elles existent, très peu abondantes.

Seul le *B. intestinalis tuberculiformis* est peut-être plus important, car dans un cas où j'ai fait un essai de numération (enfant au sein rigoureusement normal), je l'ai rencontré dans les fortes dilutions; d'autre part, j'ai pu l'isoler dans mes cinq observations.

Je résume sous forme de tableau les caractères principaux des espèces nouvelles décrites dans ce travail.

(Fév. 1906.)

Actions des substances hémolytiques sur les Protozoaires, les Spirochètes et les Vibrions.

Par C. LEVADITI et A. ROSEMBAUM

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans un travail récent, Neufeld et Prowazek [1] ont soutenu l'existence d'une relation étroite entre les protozoaires et les spirochètes, se basant sur la sensibilité de ces microorganismes vis-à-vis de certains glucosides (en particulier la saponine) et du taurocholate de soude. Ils ont constaté que, tandis que les bactéries, exception faite du pneumocoque, vivent et pullulent dans des solutions concentrées de ces substances, par contre, les spirochètes, pareils en cela aux trypanosomes, succombent rapidement sous l'influence de solutions même très étendues. L'emploi de ces agents hémolysants permet donc de démontrer qu'au point de vue de la sensibilité du protoplasma à l'égard de ces principes toxiques, il y a plus d'analogie entre les spirochètes et les protozoaires flagellés, qu'entre ces spirochètes et les bactéries.

L'importance du problème que les savants allemands se sont proposé de résoudre est hors de conteste. On a toujours discuté si les spirochètes sont des protozoaires ou des bactéries, et malgré les nombreuses recherches morphologiques faites dans cette voie, on est loin d'être d'accord sur ce sujet. Nous en avons la preuve dans la découverte des cils du *Sp. gallinarum* (Borrel) qui devait mettre hors de doute la nature microbienne des spirochètes et qui cependant est loin d'avoir entraîné la conviction. Malgré la netteté de ces cils, semblables à ceux des bactéries, certains protozoologistes allemands, entre autres Prowazek, Hartmann et Keisselitz [2], ne les interprètent pas dans le même sens que Borrel et Zettnow et ne considèrent guère leur existence comme une preuve irréfutable en faveur de la nature bactériacée des spirochètes.

1. Neufeld et Prowazek, *Arb. aus. dem. kais. Gesundheitsamte*, 1907, vol. XXV, fasc. 2.

2. Keisselitz, *Arch. für Protistenkunde*, 1907, vol. X, p. 177.

Peu après la publication du travail de Prowazek et Neufeld, nous avons entrepris une série d'expériences afin de préciser *les relations entre les spirochètes, les protozoaires et les bactéries, en recherchant comment ces microorganismes se comportent vis-à-vis de tout un groupe de substances douées de propriétés hémolysantes.* Les faits que nous avons observés font le sujet de ce mémoire dont les principales conclusions ont été déjà résumées antérieurement[1].

I

ACTION DES GLUCOSIDES

Le mécanisme suivant lequel les glucosides agissent sur les hématies pour engendrer l'hémolyse, a été précisé par les recherches de Ransom[2] concernant la saponine. Cet auteur a montré que si la saponine engendre la dissolution des globules rouges, c'est qu'elle se fixe sur le stroma globulaire grâce à son affinité pour la cholestérine, qui entre dans la constitution de ce stroma. Le pouvoir antihémolytique du sérum normal est également dû à sa teneur en cholestérine, car l'extrait éthéré de ce sérum entrave l'hémolyse, cependant qu'une suspension de cette cholestérine jouit des mêmes propriétés. Ces recherches ont ainsi prouvé, ce qui, d'ailleurs, avait été déjà soutenu par Owerton[3], que les glucosides engendrent l'hémolyse en s'attaquant aux lipoïdes qui constituent la membrane des hématies et ont apporté une preuve indirecte en faveur de l'existence de ces lipoïdes dans l'enveloppe cellulaire.

Etant donné l'état imparfait de nos connaissances sur la constitution de l'enveloppe membraneuse des protozoaires, il était intéressant de rechercher si les glucosides agissent sur ces derniers de la même manière que sur les hématies et si les lipoïdes jouent quelque rôle dans l'action zootoxique[4] de ces

1. Levaditi et Rosenbaum, *Bull. de la Société de Pathologie exotique*, 1908, vol. I, n° 2.
2. Ransom, *Deutsche med. Woch.*, 1901, n° 13, p. 1904.
3. Owerton, cité d'après Höber, *Physic. chem. der Zelle und, der Gewebe*, Leipzig, Engelmann, 1906.
4. Nous appelons « action zootoxique » l'influence toxique exercée par certains agents hémolysants sur les protozoaires (paramécies ou trypanosomes).

glucosides. En poursuivant des recherches dans cette voie, et en choisissant les *paramécies* (*Par. aurelia*) comme sujet d'expérience [1], nous avons constaté ce qui suit :

La saponine, en solution dans de l'eau physiologique, immobilise et tue les paramécies à la dose de 1/10,000, cela presque instantanément. Or, il suffit d'ajouter à plusieurs doses toxiques de saponine (1 c. c. sol. 1 : 10,000) 0,75 c. c. de sérum normal de lapin, porté préalablement pendant 1/4 d'heure à la temp. de 60°, pour empêcher complètement l'immobilisation des paramécies. *Le sérum normal, à la condition qu'il ait perdu par le chauffage sa toxicité propre, neutralise le pouvoir zootoxique de la saponine, de même qu'il entrave la fonction hémolytique de ce glucoside.* Or, on peut démontrer que les lipoïdes interviennent dans le mécanisme de l'action zootoxique de la saponine, en procédant de deux façons :

a) *En recherchant le pouvoir empêchant de l'extrait éthéré de sérum neuf.* Tout comme dans l'expérience de Ransom, nous avons, en effet, remarqué que le sérum de lapin, épuisé par l'éther, permet d'obtenir un extrait qui, mélangé à plusieurs doses toxiques de saponine, empêche l'immobilisation des paramécies.

b) *En examinant les propriétés de l'extrait éthéré de paramécies.* Si l'on traite par de l'éther une certaine quantité de paramécies isolés par centrifugation, on obtient un extrait qui, mis en contact avec 0,5 d'une solution de saponine à 1 : 10,000, neutralise le pouvoir zootoxique de ce glucoside (act. sur les paramécies).

Ces données montrent que la saponine agit suivant le même mécanisme sur les hématies et sur les protozoaires. Tout comme les globules rouges, ces derniers ont une enveloppe ectoplasmique contenant des lipoïdes, lesquels sont capables de fixer le glucoside et permettent ainsi au poison d'exercer ses propriétés toxiques. L'analogie entre les protozoaires et les cellules animales, au point de vue de la constitution de leur membrane et de leur sensibilité vis-à-vis des glucosides, est donc des plus frappantes. Or, comme les recherches de Prowazek et Neufeld

1. Nous remercions M. Mesnil pour l'obligeance avec laquelle il a mis à notre disposition les cultures de paramécies.

ont démontré que certains spirochètes se comportent vis-à-vis des glucosides de la même façon que les hématies, il y a tout lieu de croire que ces spirilles offrent les mêmes caractères que les protozoaires, c'est-à-dire qu'ils renferment des lipoïdes dans leur ectoplasma. Nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur cette façon de voir conforme à celle énoncée par Neufeld et Prowazek.

II

ACTION DU VENIN DE COBRA ET DE LA COBRA-LÉCITHIDE

Nous avons recherché quelle est l'action exercée par le venin du cobra [1] sur les protozoaires (paramécies et trypanosomes), les spirochètes et les bactéries et nous avons comparé cette action à celle du même venin sur les hématies. Déjà en 1905, Noc [2] et Goebel [3] ont constaté que le venin de cobra exerce une influence toxique manifeste sur les trypanosomes. Suivant Noc, ces flagellés se dissolvent complètement dans une solution de venin à 1 0/0. D'après Goebel, les trypanosomes du Nagana, puisés dans le sang des cobayes infecté et isolés des globules rouges, sont dissouts par une solution de venin à 1/1000 (0,4 c. c. pour 0, 1 de sang tryp.). La destruction des parasites s'opère rapidement à 37° et n'a nullement lieu si on a soin de placer les tubes à 0°. Ces données ont ainsi montré que les protozoaires se comportent à l'égard du venin de cobra tout comme les globules rouges et ont confirmé l'existence d'une étroite relation entre ces protozoaires et les cellules animales, relation que laissaient entrevoir, d'ailleurs, les recherches de Goebel [4] concernant l'action des solutions salines sur les trypanosomes.

Nous avons confirmé ces recherches, en ce sens que nous avons vérifié l'action toxique exercée par le venin de cobra sur les trypanosomes du Surra. Mis en présence de 0,25 d'une solution à 1/10,000 de ce venin, ces trypanosomes (sang de souris infectée) s'immobilisent au bout de 10 à 20 minutes, devien nent transparents, laissent voir leurs noyaux et finissent par

1. Le venin de cobra nous a été procuré par M. le Prof. Calmette, que nous prions de recevoir tous nos remerciements.

2. Noc, cité par Calmette, *Les venins et les animaux venimeux*, Paris, Masson, p. 217.

3. Goebel, *Ann. Soc. méd. de Gand.*, 1905, fasc. 3.

4. Goebel, *Ann. Soc. méd. de Gand*, 1906, vol. LXXXVI, p. 11.

se détruire plus ou moins complètement. Cette destruction des trypanosomes ne marche pas de pair avec l'hémolyse des hématies de souris; ces hématies semblent, en effet, être moins sensibles à l'action du venin que les flagellés.

Les trypanosomes ne sont pas les seuls à être sensibles à l'action toxique du venin. En effet, si on met en contact 1 c. c. d'une culture riche en *paramécies*, avec une solution de venin à 1/10,000 (0,5 c. c.; concentration totale du venin = 1/40,000,), on constate que ces organismes s'immobilisent pour ainsi dire immédiatement, se déforment, laissent exsuder des bulles granuleuses et finissent par se transformer en un détritus qui tombe au fond du tube.

Comment se comportent les spirochètes à l'égard du venin de cobra?

Nous avons expérimenté avec les spirochètes de la *Tick-fever* (sang de rat) et le *Sp. gallinarum*, et nous avons trouvé que ses parasites sont assez sensibles à l'action toxique de ce venin. Le sp. de la poule est plus facilement immobilisé par le venin de cobra que le sp. de la fièvre récurrente ; dans nos expériences, le *Sp. gallinarum* a été tué par une solution de venin à 1 : 10,000, cependant que le *Sp. Duttoni* ne s'est immobilisé que lentement en présence d'une solution à 1 : 1,000. Nous avons trouvé également que l'hémolyse produite par le venin, mis en présence de sang contenant des spirilles, ne joue aucun rôle dans la destruction des parasites en spirale; en effet, des spirilles de la poule, isolés par centrifugation et débarrassés aussi bien que possible d'hématies, continuent à être sensibles à l'action toxique du venin de cobra.

Ces recherches montrent donc *que non seulement les hématies et les trypanosomes, mais aussi les paramécies et les* Sp. Duttoni et gallinarum *sont tués par le venin de cobra*. Comment se comportent, à ce point de vue, les bactéries?

Les propriétés bactéricides du venin de cobra ont été étudiés par Calmette[1] et par son élève Noc[2] qui ont constaté une action bactéricide manifeste avec la bact. charbonneuse, le vibrion cholérique, le staphylocoque doré, etc., et une action bactériolytique moins nette avec le colibacille et le bac. d'Eberth. Nous avons

1. Déjà cité.
2. Noc, Ces *Annales*, avril 1905.

nous-même repris ces recherches en expérimentant avec le *Vibrio Cassino* et nous avons constaté qu'en effet ce vibrion se laisse facilement détruire par 0,5 et 1,0 d'une solution à 1 0/0 de venin. La méthode des plaques nous a montré, d'ailleurs, que cette action bactéricide de venin est presque immédiate ; en effet, tandis que dans le tube témoin (renfermant du bouillon) nous avons eu à compter, lors du premier ensemencement, 960 colonies, par contre dans celui qui contenait 0,5 de venin, la stérilisation a été complète et définitive.

Le fait que le venin de cobra agit à la fois sur le groupe hématies-protozoaires-spirochètes et sur les vibrions cholériques semble, au premier abord, venir à l'encontre de l'opinion qui, se basant sur la sensibilité vis-à-vis des poisons hémolysants, établit une séparation entre ces vibrions et les spirochètes, en rapprochant ces derniers des protozoaires. Cependant, l'analyse détaillée des diverses propriétés toxiques du venin montre qu'il n'en est rien et que *la substance bactériolytique de ce venin doit être nettement séparée du principe hémolysant et zootoxique.*

A ce propos, nous avons établi, tout d'abord, que les propriétés *hémolytiques*, *zootoxiques* et *spirillolytiques* du venin sont liées à une seule et même substance, dont les principaux caractères sont la *thermostabilité* et *l'affinité pour la lécithine.* On sait, d'après des constatations antérieures faites en particulier par Morgenroth, que l'hémolysine du venin, contrairement à la protéolysine et à la neurotoxine résiste à un chauffage à 100 degrés, prolongé pendant 20 minutes. Or, nous avons trouvé que le venin, porté à cette température pendant 5 et 15 minutes, continue à être toxique, non seulement pour les hématies, mais aussi pour les paramécies, les trypanosomes et les spirochètes. *Les propriétés zootoxiques et spirillicides du venin de cobra sont donc, tout comme les qualités hémolysantes, thermostabiles.*

De plus, nous avons établi que les propriétés zoolytiques et spirillolytiques de ce venin sont, comme les qualités hémolytiques, liées à la présence d'une substance ayant une affinité particulière pour la lécithine.

Nous n'insisterons pas ici sur le rôle de la lécithine dans le mécanisme d'action de la cobra-hémolysine. On sait que, peu après la découverte de la réactivation du venin de cobra par le sérum frais ou chauffé à 62 degrés, due

à Flexner et Noguchi [1] et à Calmette [2], Preston Kyes [3] a démontré que cette réaction était attribuable à la présence de lipoïdes, en particulier de la lécithine dans ce sérum. La lécithine offre une affinité particulière pour la cobra-hémolysine, se combine avec elle (Kyes) pour former un composé stable doué de propriétés hémolysantes. Grâce à une technique particulière, Kyes a réussi à préparer dans le laboratoire d'Ehrlich une *lécithide* en partant de l'hémolysine du venin de cobra et d'une solution de lécithine dans du chloroforme. Les propriétés de cette lécithide diffèrent sensiblement de celles du venin et de la lécithine, surtout pour ce qui concerne la solubilité, la thermostabilité et l'action neutralisante de l'anti-venin.

Nous avons recherché si les propriétés zootoxiques et spirillolytiques du venin sont liées à une substance offrant la même affinité pour la lécithine que la cobra-hémolysine, en expérimentant avec une cobra-lécithide mise obligeamment à notre disposition par M. le prof. Ehrlich. Nos recherches nous ont montré que la *lécithide est non seulement fortement hémolysante* [4] *mais que, de plus, elle immobilise et détruit rapidement les paramécies et les spirochètes de la poule*. Ainsi, 0,1 d'une solution à 1/1000 a immobilisé un c. c. d'une culture de paramécies, et 0,1 d'une solut. à 1 0/0 a exercé une action toxique manifeste sur les spirochètes contenus dans 3 gouttes de sang de *Padda* infecté. Il en résulte que les protozoaires et les hématies sont plus sensibles à l'action toxique de la lécithide que les spirochètes.

Ces deux caractères, la thermostabilité et l'affinité, pour la lécithine, permettent donc d'identifier le principe zootoxique et spirillolytique du venin avec la cobra-hémolysine.

Quels sont les arguments qui nous autorisent à établir une distinction marquée entre la *bactériolysine* du venin et la substance toxique pour les hématies, les protozoaires et les spirochètes? Ils sont de même ordre que les précédents, à savoir la sensibilité à la chaleur et l'affinité pour la lécithine. En effet, Noc et Calmette ont remarqué que cette bactériolysine, contrairement à l'hémolysine, se détruit par un chauffage à 80 degrés et nous avons pu conformer ce fait. Dans nos expériences la dose bactériolytique [5] du venin de cobra non chauffé, pour le *Vibrio Cas-*

1. Flexner et Noguchi, *Journ. of. exp. med.* 1902, vol. VI, nº 3.
2. Calmette, *C. R. de l'Ac. des sciences*, 1902, vol. XXXIV, nº 24.
3. Kyes, *Berl. klin. Woch.* 1902, nºs 38, 39; 1903, nºs 42, 43. Kyes et Sachs, *Berl. klin. Woch.*, 1903, nºs 3 et 4.
4. 0,1 d'une solut. à 1/1000 dissout complètement 2 gouttes de sang de rat.
5. Une anse de culture en gélose, diluée dans 20 c. c. de bouillon. Ensemencement de 5 gouttes dans 2 c. c. de liquide (bouillon-venin).

sino a été de 0,1 d'une solution à 1/1000 (1,020 colonies immédiatement après l'ensemencement, *zéro* colonies 6 heures après). Le chauffage à 60° pendant un quart d'heure n'a nullement influencé l'action bactéricide du venin, cependant que ce venin, porté pendant le même temps à 80 degrés, a complètement perdu son pouvoir vibriolytique. *L'hémolysine et par conséquent la zootoxine et la spirillolysine sont thermolabiles, cependant que la bactériolysine du venin est relativement thermostabile.*

De plus, *tandis que l'hémolysine forme avec la lécithine une lécithide active, par contre la bactériolysine offre une affinité de beaucoup moins marquée pour les lipoïdes.* Nous en avons la preuve dans le fait que la cobra-lécithide, tout en étant fortement hémolysante, zootoxique et spirillolytique, ne jouit que d'un pouvoir vibriolytique faible, presque nul.

Exemple :

Lécithine $\left(\frac{1}{100}\right)$	Bouillon.	Vibrions.	Immédiatement.	Après six heures.
0,1	1,9	5 gouttes.	1.103 col.	Innombrables.
0,5	1,5	»	180 col.	»
1,0	1,0	»	360 col.	»
—	2,0	»	960 col.	»
Venin $\left(\frac{1}{100}\right)$				
0,5	1,5	»	0 col.	0
1,0	1,0	»	1 col.	0

Ces recherches montrent que, si l'on considère *le venin entier*, il est impossible de faire une distinction entre les hématies, les protozoaires et les spirochètes d'une part, les bactéries de l'autre. Il suffit cependant de séparer l'hémolysine de la bactériolysine en s'adressant à l'action de la chaleur ou à l'affinité pour les lipoïdes, pour constater que ces deux groupes de parasites et cellules se comportent différemment à l'égard de la cobra-hémolisyne. En effet, tandis que les globules sanguins, les protozoaires et les spirilles sont détruits par l'hémolysine

thermostabiles du venin et par la cobra-lécithide, par contre, les vibrions cholériques, bactéries les plus rapprochées des spirochètes, se montrent insensibles vis-à-vis de ces poisons. *Force nous est donc d'admettre l'existence d'une affinité marquée, au point de vue biologique, entre les spirochètes pathogènes, les cellules animales et les protozoaires.*

***

Quelle peut être la raison de cette différence dans la façon de réagir des cellules, des protozoaires et des spirochètes d'une part, des bactéries d'autre part, vis-à-vis de la cobralysine? Nous savons que les poisons hémolysants déterminent la sortie de l'hémoglobine en agissant sur la membrane globulaire, membrane dont la richesse en *lipoïdes* ne laisse aucun doute [1]. Il a été démontré, d'autre part, que la cobralysine s'attaque aux hématies grâce à l'affinité qu'elle possède pour les lipoïdes [2] en général et pour la lécithine en particulier. Il est donc fort possible que, si les cellules [3], les protozoaires et les spirilles sont sensibles à l'égard de l'hémolisine du venin, cela tient précisément à ce qu'ils possèdent une membrane contenant des lipoïdes en quantité suffisante pour réactiver cette hémolysine, ou bien des lipoïdes dans un état de combinaison facile à défaire. Si, d'autre part, les bactéries sont insensibles à l'égard de la cobralysine, cela pourrait être du à une constitution particulière de leur enveloppe membraneuse, laquelle serait pauvre en lipoïdes, ou contiendrait des lécithines à l'état de combinaison plus stable. Il s'agit là d'une hypothèse dont la vérification expérimentale serait particulièrement importante. En effet, aux différences morphologiques et biologiques déjà connues entre le monde des protistes et celui des bactéries, viendraient s'ajouter des dissemblances dans la constitution chimique de leur membrane.

L'emploi du venin peut, jusqu'à un certain point, résoudre

1. Voir les constatations intéressantes recueillies par Pascucci au laboratoire de Hofmeister.

2. La lécithine n'est pas seule à réactiver le venin. Suivant Noguchi (*Journ. of exp. med.*, 1906, vol. VIII, 1901), Kyes et Sachs (*Berl. klin. Woch.*, 1903, nos 3, 4) et Mayer (*Biochem. Zeitschr.* 1906, vol. I), la trioléine la képhaline et la jécorine possèdent la même propriété.

3. Certaines espèces de globules rouges, p. ex. les hématies du rat et de la souris.

ce problème, car la cobralysine, grâce à son affinité pour les lipoïdes, est un excellent réactif pouvant indiquer la présence de la lécithine dans les produits organiques et aussi l'état dans lequel se trouve ce lipoïde. Comme le fait remarquer H. Sachs [1], l'emploi de la cobralysine peut nous renseigner sur l'existence de lécithine « disponible » entrant dans la constitution des tissus et des cellules.

Nous avons entrepris une longue série d'expériences dans le but de rechercher s'il était possible de révéler certaines différences entre les bactéries d'une part, les protozoaires, les hématies et les spirochètes de l'autre, en ce qui concerne leur richesse en lipoïdes capables de réactiver la cobralysine. Pour ce faire, nous avons traité ces éléments (aussi isolés que possible) avec de l'éther et nous avons apprécié le pouvoir réactivant de l'extrait éthéré vis-à-vis du venin, en présence des globules rouges de rat et de mouton. A des quantités croissantes de cet extrait éthéré et après évaporation, nous avons ajouté une dose de venin inactive par elle-même, et nous avons apprécié l'intensité de l'hémolyse, ainsi que le temps nécessité par la dissolution complète des hématies [2].

En procédant de la sorte, nous avons constaté *qu'il est facile d'extraire non seulement des hématies, mais aussi des paramécies et des spirochètes de la poule, des substances solubles dans l'éther capables de réactiver le venin de cobra*. Nous donnons comme exemple une expérience de réactivation avec l'extrait éthéré *de spirilles de la poule*.

On recueille, par centrifugations répétées, les spirilles contenus dans le sang d'une poule sacrifiée en pleine infection. Le magma spirillaire ne renferme que peu de globules rouges. On ajoute 20 c. c. d'éther, on agite et on laisse séjourner jusqu'au lendemain. L'éther est décanté et introduit dans des tubes à essais. Evaporation de l'éther au bain-marie (55°), puis à l'étuve à 60°. Après l'achèvement de l'évaporation, on ajoute de l'eau salée et 0,3 d'une sol. de venin à 1 : 100. Les tubes sont maintenus pendant 1/4 d'heure à 38°, après quoi on introduit deux gouttes de sang de mouton, préalablement lavé [3].

1. H. Sachs, *In Handb. der Techn. u. Meth der Immunitätslehre* (Kraus et Levaditi), vol. I, p. 254.

2. D'habitude, nous introduisons des quantités variables de l'extrait éthéré dans des tubes à essai et nous évaporons l'éther dans un bain-marie à 50°, puis à l'étuve (60°).

3. Une expérience de contrôle faite avec une quantité d'hématies égale à celle qui est mélangée au spirochète nous a donné un résultat négatif.

Extrait éthéré.	Venin.	Eau salée.	Après 3 h. à 38°.
2,0	0,3	1,7	Trace.
4,0	0,3	1,7	Complet.
6,0	0,3	1,7	Complet.
6,0	—	2,0	0
Ether pur.			
6,0	0,3	1,7	0
—	0,3	1,7	0
—	—	2.0	0

D'ailleurs, pour ce qui concerne les *paramécies* (cultures centrifugées et lavées), il n'est nullement besoin de les épuiser par l'éther pour mettre en évidence la présence de lipoïdes capables de réactiver le venin. Le contact direct de la cobralysine avec ces protozoaires rend cette lysine active pour les hématies de mouton.

Il est donc bien établi que les globules rouges, les protozoaires et aussi les spirilles renferment des lipoïdes possédant des qualités réactivantes vis-à-vis du venin. Comment se comportent, à ce point de vue, les *bactéries ?* Nos expériences ont été concordantes pour prouver qu'*au point de vue de la présence des lipoïdes réactivants, aucune différence ne saurait exister entre ces bactéries et le groupe hématies-protozoaires-spirochètes*. En effet, l'emploi de l'éther nous a permis d'extraire non seulement du vibrion cholérique (*V. Cassino*), mais aussi de la bactéridie charbonneuse des lipoïdes en présence desquelles le venin devenait actif vis-à-vis de certaines espèces d'hématies.

Que faut-il conclure de ces données? Comme le faisaient déjà prévoir les recherches d'Owerton, il n'y a pas lieu de faire une distinction marquée entre les cellules animales et les cellules végétales au point de vue de la présence de lipoïdes dans la membrane cellulaire. Il est même très probable que tout élément cellulaire contient des lipoïdes en quantité plus

ou moins considérable, et dans un état plus ou moins stable. La séparation que nous venons d'établir entre les hématies, les protozoaires et les spirochètes d'une part, les bactéries d'autre part, au point de vue de leur sensibilité à l'égard de la cobralysine, ne saurait donc tenir à l'absence de lipoïdes réactivants chez ces derniers. Elle ne peut s'expliquer que de deux façons : soit que ces deux ordres d'éléments possèdent un protoplasma inégalement sensible vis-à-vis de ce poison thermostabile du venin de cobra, soit que les lipoïdes se trouvent chez les cellules animales et le protozoaire dans un état moins stable que chez les bactéries. Suivant cette dernière hypothèse, les éléments cellulaires, les protozoaires et les spirilles contiendraient des lipoïdes à l'état de combinaison instable, lipoïdes qu'ils cèdent facilement dès qu'ils se trouvent en présence du venin. Quoi qu'il en soit, un fait reste bien établi : *c'est la dissemblance entre les spirochètes et les vibrions au point de vue de leur sensibilité à l'égard de la cobralysine.*

III

ACTION DES EXTRAITS D'ORGANES AUTOLYSÉS

Certains extraits d'organes obtenus en faisant macérer les tissus dans de l'eau salée, à 38°, sont doués de propriétés hémolytiques manifestes. Le fait a été établi par Tarassévitch [1], qui, en opérant avec des ganglions lymphatiques, a obtenu des extraits hémolysants qu'il croyait identiques avec le complément hémolytique du sérum (*macrocytase*). Cependant, les recherches de Korschun et Morgenroth [2] ont démontré que ces extraits ont des qualités hémolysantes différentes de celles du complément hémolytique en ce sens que l'hémolysine des organes est, contrairement à celle du sérum, *thermostabile et soluble dans l'alcool*. Ces constatations, confirmées par Donath et (Landsteiner [3], ont été complétées par les recherches de Levaditi [4]. Cet auteur a démontré que l'hémolysine thermostabile *coctostabile)* des macérations des glandes lymphatiques de

1. Tarassévitch, *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, n° 2.
2. Korschun et Morgenroth, *Berl. klin. Woch.*, 1902, n° 37.
3. Donath et Landsteiner, *Wien. klin. Rundschau*, 1902, n° 40.
4. Levaditi, ces *Annales*, 1903, vol. XVII, p. 187.

cobaye résulte de l'autolyse aseptique des tissus et doit être identifiée avec les acides gras, les acides amidés et les savons qui se forment au cours de cette autolyse.

Nous avons repris l'étude de ces extraits d'organes au point de vue de leur action non seulement sur les hématies, mais aussi sur les protozoaires, les spirilles et les bactéries et nous sommes arrivés à des conclusions qui confirment les données que nous venons d'énoncer. Nous nous sommes servis pour cela d'*extraits de pancréas et de ganglions lymphatiques*[1] de cobaye, préparés de la façon suivante : les pancréas de trois cobayes saignés à blanc sont triturés finement dans un mortier et suspendus dans 20 à 30 c. c. d'eau salée isotonique. On soumet le mélange pendant 5 heures à 38° et on le conserve jusqu'au lendemain à la glacière. L'extrait est débarrassé de cellules par centrifugations répétées.

Nos recherches nous ont montré que *l'extrait de pancréas de cobaye, préalablement autolysé, est à la fois hémolytique, zootoxique et spirillolytique, cependant qu'il ne jouit d'aucun pouvoir bactéricide*. Ainsi, 0,1 c. c. de cet extrait suffit pour dissoudre complètement (une heure à 38°) 1 c. c. d'une suspension d'hématies de cobaye dans de l'eau salée (1 c. c. sang pour 20 c. c. eau). Dilué de moitié avec de la macération de choux, milieu que nous avons employé pour la culture des paramécies, cet extrait immobilise au bout de 20 minutes ces protozoaires. Sa dose toxique pour les spirochètes du rat (*réc. américaine*) est d'environ 0,5 pour 4 gouttes de sang spirillé. De plus, nous avons constaté que l'*extrait de ganglions lymphatiques jouit des mêmes propriétés que l'extrait de pancréas*, tandis que l'extrait de foie est complètement inactif. Cependant, le pouvoir hémolytique, zootoxique et spirillicide de cet extrait de glandes lymphatiques est sensiblement inférieur à celui de l'extrait pancréatique. Quant aux qualités bactéricides, appréciées vis-à-vis du *Vibrio Cassino*, elles sont nulles, comme le prouve l'expérience suivante :

1. Ganglions mésentériques.

EXTRAIT DE PANCRÉAS DE COBAYE + VIBRIO CASSINO

Extrait.	Bouillon.	Immédiatement.	Après 5 heures.
0,1	1,9		∞
0,5	1,5		∞
1,0	1,0	Environ	∞
1,5	0,5	1,000 colonies.	∞
—	2,0		∞

Nous avons recherché quels sont les principes auxquels ces extraits d'organes doivent leurs propriétés hémolytiques, zootoxiques et spirillicides et nous avons recueilli les constatations suivantes :

Le chauffage préalable à 100° de la macération de pancréas ou de glandes lymphatiques, pratiqué avant l'autolyse, entrave la formation des corps hémolysants, zootoxiques et spirillolytiques thermostabiles. Sous l'influence de la chaleur, le ou les ferments lypolytiques (lipase, steapsine) se détruisent et il ne s'opère nulle transformation des graisses neutres et des lipoïdes de l'ordre de la lécithine, en acides gras et en savons solubles. Tout porte en effet à croire que les principes hémolysants des extraits d'organes ne sont autres que des acides gras et des savons provenant de l'autolyse de ces graisses et de ces lipoïdes. En effet, ces principes, comme l'ont vu Korschun et Morgenroth, sont solubles dans l'alcool et très résistants à l'action de la chaleur. D'un autre côté, Noguchi[1] a montré tout récemment que, si l'on ajoute à quelques gouttes de trioléine, de graisse animale ou de beurre une certaine quantité de lipase pancréatique, on provoque la formation de composés hémolytiques que l'on doit identifier avec les acides gras et les savons. Ces derniers sont d'ailleurs fortement toxiques pour les hématies de quelques espèces animales.

Nous avons nous-mêmes examiné cette question, et nous avons trouvé que *certains acides gras, en particulier l'acide oléique, agissent non seulement sur les globules rouges, mais aussi sur les paramécies, les trypanosomes du*

1. Noguchi, *Biochem. Zeitsch.* 1907, vol. VI, p. 185; *Journ. of. experim. med.* 1907, vol. IX, p. 436.

Surra et les spirochètes de Marchoux et Salimbeni. Il en est de même des savons solubles, tel *l'oléate de soude*, qui possèdent des qualités hémolytiques, zootoxiques et spirillolytiques plus accusées même que celles des acides gras correspondants[1].

En outre, en nous servant de la méthode employée par Faust et Tallquist[2] pour l'isolement de l'hémolysine de l'extrait de *Bothriocephalus latus*, nous avons pu retirer des macérations autolysées de pancréas et de glandes lymphatiques, des savons et des acides gras (mélange d'acide oléique et palmitique, avec prédominance du premier) qui se sont montrés actifs vis-à-vis des hématies, des trypanosomes et des spirochètes. Ces acides et les savons correspondants ont été plus abondants dans l'extrait de pancréas que dans la macération des glandes lymphatiques de cobaye, ce qui concorde avec l'activité hémolysante et zootoxique de ces deux extraits.

En résumé, *sous l'influence des ferments lypolytiques contenus dans le pancréas et très probablement aussi dans les glandes lymphatiques, les graisses neutres et les lipoïdes en général (lécithine), contenus dans ces tissus, se dissocient pour mettre en liberté des acides gras, lesquels ne tardent pas à former des savons solubles. L'autolyse des graisses et des lipoïdes amène ainsi la formation des substances chimiquement bien définies, qui sont douées de propriétés à la fois hémolysantes, zootoxiques et spirillolytiques.*

Or, lorsqu'on examine les qualités bactéricides vis-à-vis du vibrion cholérique de ces extraits d'organes, ou des savons alcalins (oléate de soude), on constate qu'il est nul ou peu s'en faut. Voici une expérience qui le démontre :

OLÉATE DE SOUDE, SOLUTION A 1 0/0 + VIBR. CASSINO

Oléate.		Bouillon.	Immédiatement.	Après 5 heures.
1,0	$\frac{1}{100}$	1,0	Environ 1,000 colonies.	∞
0,5		1,5		∞
1,0	$\frac{1}{1,000}$	1,0		∞
0,5		1,5		∞
—		2,0		∞

1. Nous avons trouvé qu'au point de vue de l'action des acides gras et des savons, les paramécies sont plus résistants que les trypanosomes. Cela tient probablement à la réaction légèrement acide du milieu de culture de paramécies.

2. FAUST ET TALLQUIST, *Arch. für exp. pathol.*, vol. LVII, fasc. 6, 1907, p. 367.

D'après les recherches toutes récentes de Landsteiner et H. Ehrlich [1], l'*acide oléique* exerce une influence bactéricide manifeste vis-à-vis de la bact. charbonneuse et le *Vibr. Massauah*. Cependant, comme nous venons de le voir dans nos expériences, l'oléate de soude, employé à des doses sûrement toxiques pour les hématies, les protozoaires et les spirilles, ne s'opose nullement au développement du vibrion Cassino.

Ces recherches montrent donc que, conformément à ce que l'on observe avec les glucosides, le taurocholate de soude (Neufeld et Prowazek) et le venin de cobra, les hématies, les protozoaires et les spirochètes se comportent différemment des vibrions cholériques, au point de vue de leur sensibilité à l'égard des extraits d'organes et des savons solubles. Mais il y a plus.

On sait que les *extraits de leucocytes polynucléaires* renferment des principes jouissant de propriétés bactéricides manifestes vis-à-vis des vibrions, du b. typhique et d'autres bactéries. *Or, en expérimentant avec ces extraits* (*leucocyte de lapin*), *nous avons constaté que, tout en étant bactériolytiques pour le V. Cassino et le b. d'Eberth, ils sont complètement inactifs à l'égard des hématies, des protozoaires et des spirochètes*.

Exemple. — Les leucocytes polynucléaires de l'exsudat pleural, provoqué chez 3 lapins en injectant du Mellin's food, sont isolés par centrifugation dans des tubes paraffinés et lavés une fois. On les suspend dans 10 c. c. d'eau salée, on les congèle et décongèle à plusieurs reprises, on les laisse macérer 5 heures à 38° et on les conserve jusqu'au lendemain à la glacière. L'extrait clair obtenu par centrifugation est employé par des expériences de bactériolyse, de zootoxie et de spirillolyse.

1. Landsteiner et H. Ehrlich, *Centrbt für Bakt.* 1907, vol. XLV, fasc. 3, p. 247.

POUVOIR BACTÉRICIDE DE L'EXTRAIT DE LEUC. POLYNUCLÉAIRES

	Extrait.	Bouillon.	Immédiatement.	Après 5 heures.
Bac. d'Eberth.	0,1	0,9	Environ 2,500 colonies	∞
	0,5	1,5		∞
	1,0	1,0		800
	1,5	0,5		20
	—	2,0		∞
Vibrio Cassino.	0,1	1,9	Environ 2,000 colonies	∞
	0,5	1,5		Environ 1,000
	1,0	1,0		0
	1,5	0,5		Environ 100
	0	2,0		∞

L'extrait n'agit en aucune façon sur les trypanosomes (Surra), les spirochètes de la poule et les hématies de cobaye.

Ces données montrent que, *tandis que les extraits autolysés de globules blancs mononucléaires (ganglions lymphatiques) renferment des substances thermostabiles hémolytiques, zootoxiques et spirillolytiques, par contre les extraits de leucocytes polynucléaires, tout en étant bactériolysants*[1], *n'ont aucune action sur les cellules animales, les protozoaires et les spirochètes. On ne peut s'empêcher de faire un rapprochement entre ces constatations et le fait que, dans l'organisme vivant, ce sont précisément surtout les polynucléaires qui englobent et détruisent les bactéries, cependant que la destruction phagocytaire des hématies, des protozoaires et aussi des spirochètes est exercée plus spécialement par les macrophages (Metchnikoff).* Quoi qu'il en soit,

1. En traitant par la méthode de Faust et Tallquist des extraits de polynucléaires (extraction par l'alcool, saponification avec NaOH (sol. normale), acidification, extraction par l'éther), nous avons obtenu des extraits qui dissolvaient faiblement les hématies de cobaye. Il s'agit très probablement d'une formation d'acides gras et de savons au dépens des *lipoïdes* analogues à la lécithine. L'extrait alcoolique *simple* de leucocytes polynucléaires est inactif vis-à-vis des hématies, des protozoaires, des spirochètes et des *bactéries*.

nous devons conclure de toutes ces expériences que, *au point de vue de la sensibilité à l'égard des poisons hémolysants, les hématies, les protozoaires et les spirochètes constituent un groupe homogène se rapprochant, à cet égard, plus des protozoaires que des bactériacées.* Conformément à une conception avancée déjà par Caullery et Mesnil[1] et par Dofflein[2], nous sommes enclins à envisager les spirochètes comme des organismes faisant transition entre le monde des protozoaires et celui des bactériacées.

Janvier 1908.

1. Caullery et Mesnil, *Revue générale des sciences*, 1906 (v. page 91).
2. Dofflein, *Rapport au Congrès d'hygiène de Berlin*, sept. 1907.

Etude expérimentale sur le sort de la toxine tétanique dans le tube digestif

PAR M. H. VINCENT
Médecin-major de 1re classe, professeur au Val-de-Grâce.

I

On a signalé depuis longtemps que les animaux peuvent ingérer des doses énormes de toxine tétanique sans effets dangereux. D'autre part, le bacille de Nicolaier vit dans l'intestin des herbivores sans, cependant, donner lieu au tétanos. La présence, dans le tube digestif, et l'innocuité habituelle des produits de sécrétion d'un grand nombre de bactéries, pathogènes ou non, ont suscité des interprétations très différentes. La plupart des recherches opérées en vue d'éclaircir ce problème ont été faites avec les venins. Cependant, Gibier, Charrin, Lefèvre, Ransom, Nencki, Sieber et Schoumow-Siemanowski, Carrière, ont également étudié pourquoi diverses toxines microbiennes : pyocyanique, diphtérique, tétanique, sont inoffensives par la voie digestive.

Les hypothèses, souvent contradictoires, proposées pour expliquer l'immunité digestive, se ramènent aux suivantes :

1° La muqueuse intestinale retient ou détruit les toxines grâce aux propriétés de son épithélium; le foie complète son œuvre (Gibier, Charrin) ;

2° Les microbes contenus dans l'intestin participent à cette destruction (Lefèvre) ;

3° Les toxines sont à peine modifiées par leur passage à travers l'intestin. L'épithélium ne les détruit pas ; la toxine tétanique dialyse intégralement à travers les parois de l'intestin. Le mécanisme de sa destruction est donc incertain (Carrière);

4° Pour Ransom, les toxines sont simplement expulsées avec les matières fécales sans être absorbées ni modifiées pendant leur parcours dans l'intestin.

Cependant, l'action antagoniste des sécrétions du tube digestif a paru vraisemblable à plusieurs auteurs. Charrin et Lefèvre

ont vu que la pepsine additionnée de HCl à 3/1000 atténue beaucoup la toxicité du poison diphtérique. Enfin Nencki, Sieber et Schoumow ont fait des recherches desquelles il résulte que la bile, le suc pancréatique et surtout le mélange de ces deux dernières sécrétions ont une action atténuante ou destructive sur la toxine tétanique.

Dans les recherches qui vont suivre, je me suis proposé en premier lieu de vérifier *in vivo* ce que devient la toxine tétanique dans chacun des trois segments principaux du tube digestif : estomac, intestin grêle, gros intestin; en second lieu, quelle est l'action qu'exercent *in vitro*, sur cette toxine, les divers sucs : gastrique intestinal, pancréatique et biliaire.

II

A. *Sort de la toxine tétanique dans l'estomac.* — On lie le pylore à plusieurs cobayes à jeun depuis dix-huit à vingt heures et on introduit dans leur estomac, par la voie buccale et à l'aide de la sonde, 2 à 3 c. c. de toxine tétanique. Les animaux sont sacrifiés après 1 à 3 heures.

Chaque fois, l'estomac a été trouvé contenant une plus ou moins grande quantité de bouillie alimentaire jaunâtre, de réaction acide[1]. Le contenu stomacal était additionné d'eau distillée, filtré sur bougie et injecté à doses massives à plusieurs cobayes et souris.

Aucun des animaux ayant reçu ce filtrat stomacal n'a présenté de symptômes de tétanos, bien que la quantité de toxine introduite dans l'estomac ait été de 1,000 à 1,500 doses mortelles pour le cobaye.

Pour éprouver si, dans les expériences précédentes, la toxine n'aurait pas été retenue par la paroi stomacale et, en particulier, par la muqueuse, on a sacrifié l'animal une heure après l'ingestion de la toxine ; on a détaché, vidé et haché l'estomac. Le tout a macéré pendant deux heures, à la glacière, dans l'eau distillée.

Or le filtrat sur porcelaine de cette macération n'a manifesté aucun pouvoir tétanigène.

[1]. La constatation d'aliments chez certains animaux à jeun n'est pas un fait exceptionnel. Le lapin tué même après plusieurs jours d'abstinence a encore des aliments dans son estomac. On en trouve, même si on le laisse mourir de faim (Cl. Bernard, Van Helmont).

En conséquence, et à moins qu'elle ne soit évacuée immédiatement dans l'intestin par les contractions gastriques, la toxine introduite dans l'estomac est détruite sur place en moins d'une heure.

B. *Que devient la toxine tétanique dans l'intestin?* — Dans ses expériences, Carrière lie une anse intestinale de 10 à 15 c. c., chez le lapin, et à travers la ligature supérieure il fait pénétrer du venin ou de la toxine tétanique. Les lapins ayant reçu le venin meurent à peu près aussi vite que les témoins injectés sous la peau. Il en conclut qu'il n'y a pas eu destruction du venin, soit par l'épithélium intestinal, soit par les bactéries.

Pour la toxine tétanique, il opère de même entre deux ligatures et, après 24 heures, il filtre le contenu sur papier et l'injecte à un animal : celui-ci meurt presque aussi vite que les témoins.

Dans d'autres essais, il détache entièrement, chez un lapin, un segment intestinal qu'il lave avec du sérum artificiel chloroformé et tiède; puis, après l'avoir lié, il y introduit soit du venin, soit de la toxine L'anse intestinale fermée est placée dans 10 c. c. d'eau stérilisée et chloroformée, à la température de 40°. Après 24 heures, il constate que le liquide dialysé est toxique. L'auteur admet, dès lors, que l'épithélium intestinal ne retient pas et ne détruit pas le venin ou la toxine.

La technique employée dans ces expériences, ainsi que l'intervention des bactéries intestinales (inoculation du liquide filtré sur papier ou dialysé à travers l'intestin), est de nature à modifier beaucoup leurs résultats.

J'ai injecté directement dans le duodénum de plusieurs cobayes anesthésiés à l'éther 2 à 5 c. c. de toxine tétanique. Une ligature protectrice empêchait le reflux, dans l'estomac ou dans le péritoine, du liquide toxique. Après deux ou trois heures, on sacrifie les animaux, on prélève leur intestin *tout entier* et l'on fait deux parts, l'une de son contenu, l'autre de sa paroi. On joint à la première les excréments solides, peu abondants, rendus depuis l'opération.

L'intestin et son contenu sont finement hachés séparément et mis à macérer pendant deux heures, à la glacière, dans 20 cent. cubes d'eau distillée. On filtre ensuite sur bougie le liquide centrifugé et on injecte le double filtrat, à dose massive,

dans le péritoine de plusieurs cobayes; deux souris reçoivent également 1 c. c. du même liquide.

Aucun des animaux ayant reçu ces filtrats n'a présenté de symptômes tétaniques, bien que la quantité de toxine introduite dans l'intestin des cobayes vivants ait été de plus de 3,000 doses mortelles.

C. *La toxine dans le gros intestin.* — Gibier a signalé ce fait intéressant, que l'on peut introduire impunément dans le rectum des animaux des doses énormes de toxine tétanique. Selon cet auteur, la muqueuse rectale retient les toxines si elle ne les détruit pas. J'ai répété cette expérience chez le lapin et le cobaye, avec un résultat semblable.

Que devient la toxine? Un fort cobaye étant fixé sur le dos et laparotomisé, on fait une ligature sur le gros intestin, à 20 cent. environ au-dessus de l'anus. A l'aide d'une sonde placée dans le rectum, on injecte 3 à 5 cent. cubes de toxine dans le segment inférieur du gros intestin, en liant solidement celui-ci près de l'anus pour éviter le rejet du liquide par les voies naturelles.

L'animal est ensuite suturé et maintenu dans un endroit tiède pendant 2 ou 3 heures, au bout desquelles il est sacrifié. On enlève le segment du gros intestin dans lequel a été introduite la toxine, on met à part son contenu, on hache l'un et l'autre, on additionne d'eau distillée, on filtre et on injecte séparément les deux liquides à des cobayes neufs. Dans ces conditions, on constate qu'il est impossible de retrouver la moindre trace de la toxine, soit dans le contenu intestinal, soit dans sa paroi.

De cette série d'expériences, il est donc permis de conclure, dès à présent, que la toxine tétanique est susceptible de perdre son activité, après un séjour très bref, *dans l'une quelconque des régions de la portion sous-diaphragmatique du tube digestif.*

***

Il est légitime de se demander quelle est la nature de la transformation que subit cette toxine, et quel en est le mécanisme. La toxine est-elle éliminée avec les fèces, ainsi que l'a admis Ransom? Il ne peut en être ainsi, puisque, chez un animal ayant reçu dans le duodénum une forte quantité de toxine, celle-ci n'a pu être retrouvée ni dans les excréments ni dans le contenu intestinal tout entier.

Peut-on admettre, avec Carrière, que l'intestin se laisse traverser en nature par la toxine? Dans cette hypothèse, et si la toxine ou les venins dialysaient à travers la paroi intestinale, chez le vivant, la mort par tétanos ou envenimation devrait évidemment être la règle, ce qui n'est pas.

La muqueuse ou la paroi intestinales ont-elles *retenu* la toxine? Il n'en est rien. On a vu, en effet, que si on sacrifie un animal ayant reçu, dans le duodénum, plusieurs centimètres cubes de poison tétanique, et qu'on injecte à des cobayes ou des souris la macération faite à froid de l'intestin tout entier, cette injection ne se montre nullement tétanigène pour des animaux cependant très réceptifs.

Enfin, on peut être conduit à attribuer la disparition de la toxine aux qualités spéciales de l'épithélium intestinal qui aurait la propriété de la *détruire* ou de la *neutraliser*. L'expérimentation ne m'a pas permis de vérifier l'exactitude de cette hypothèse.

Plusieurs cobayes ayant été sacrifiés en pleine santé, on enlève la totalité de l'intestin dont on fait deux parts : intestin grêle et gros intestin. L'un et l'autre sont rapidement ouverts, vidés et lavés à l'eau physiologique. On racle la muqueuse et on la broie dans un mortier avec du sable stérilisé. Le tout est mis à macérer avec de l'eau distillée, pendant quelques heures et à la glacière. On filtre ensuite sur bougie les deux macérations. Leur filtrat, additionné de toxine tétanique, est porté à l'étuve à 39°.

Or les prélèvements du mélange de toxine et d'extrait aqueux de l'épithélium de l'intestin grêle, aussi bien que du gros intestin, se sont toujours montrés tétanigènes, même après 24 heures de contact; tous les animaux à qui on les a injectés sont morts dans un bref délai.

Il ne semble donc pas que l'épithélium intestinal ait la propriété, dans les conditions précitées, de neutraliser le poison tétanique.

Le même essai fait avec la paroi entière de l'intestin (muqueuse et couche musculo-celluleuse) n'a pas davantage permis de vérifier ses propriétés antitoxiques.

La toxine tétanique n'est donc ni atténuée, ni détruite par l'une quelconque des couches constituant la paroi de l'intestin.

L'hypothèse émise par Lefèvre, à savoir celle de la destruction des toxines par les bactéries de l'intestin, ne semble pas pouvoir être admise. Fermi et Pernossi ont vu qu'un grand nombre de microbes sont sans action sur la toxine tétanique. D'après Carrière, les bactéries l'atténuent sans la détruire. Du reste, l'action de ces bactéries sur la toxine peut être étudiée *in vitro*. On ensemence dans un tube de bouillon une parcelle du contenu intestinal de cobaye ou de lapin; on porte à l'étuve et, après 24 heures, on introduit dans cette culture impure où les anaérobies ont également poussé dans la profondeur, 50 à 100 doses mortelles (pour le cobaye) de toxine tétanique pour 10 c. c. de culture. Deux heures après, on filtre sur bougie : l'injection du filtrat a toujours déterminé le tétanos chez le cobaye. Parfois, la toxine a été un peu affaiblie.

Les microbes de l'intestin ne prennent donc qu'une part incomplète dans la disparition de la toxine.

Dès lors, une seule interprétation possible se présente : c'est que, pendant son parcours dans l'estomac et dans l'intestin, la toxine entre nécessairement en rapport avec les sécrétions des glandes digestives et que celles-ci exercent, à son égard, une action antitoxique.

C'est le point qu'il reste maintenant à vérifier.

III

A. *Action du suc gastrique sur la toxine tétanique.* — Charrin et Lefèvre ont pensé que la sécrétion gastrique est capable de modifier la toxicité des poisons microbiens. D'après Carrière, la pepsine dissoute dans une solution de HCl à 2 p. 1000 atténue considérablement la toxine, en 24 heures, à la température de 40°.

Enfin Nencki, Sieber et Schoumow-Siemanowski ont démontré que le suc gastrique possède une propriété atténuante semblable.

Dans mes expériences, j'ai utilisé du suc gastrique frais, de chien, que M. le Dr Frémont, de Vichy, a bien voulu m'envoyer; je le remercie très vivement de son extrême obligeance.

Ce suc gastrique s'est montré très actif à l'égard de la toxine tétanique[1].

On a mis en présence, dans un série de tubes, 1 c. c. de suc gastrique et une proportion de toxine égale à 50 ou 100 doses mortelles pour le cobaye. Le tout a été porté à l'étuve à 38°-39°. Des prélèvements étaient faits toutes les demi-heures et le mélange était injecté à des cobayes. Ce mélange s'est montré inerte déjà au bout de la première demi-heure.

Même lorsqu'on a ajouté une forte quanté de toxine (volume égal de celle-ci et de suc gastrique), le pouvoir tétanigène est annihilé en moins de trente minutes.

Chauffé à 65° pendant trente minutes, pour en détruire la pepsine, le suc gastrique a néanmoins inactivé la toxine en moins d'une heure, sans doute en raison de l'action propre de l'acide chlorhydrique sur la toxine.

Le suc gastrique possède donc des propriétés antitoxiques très notables. Comme les expériences ci-dessus ont été faites en dehors de l'intervention de la muqueuse stomacale, il semble bien établi que la disparition de la toxine dans l'estomac n'est due ni à son absorption, ni à sa rétention par cette muqueuse, mais que la sécrétion physiologique des glandes gastriques suffit à la neutralisation de cette toxine.

B. *Influence de la sécrétion biliaire sur la toxine tétanique.* — Introduite dans l'intestin, la toxine entre en contact avec la bile, le suc intestinal et la sécrétion pancréatique.

La sécrétion biliaire, bien qu'activée par l'alimentation, est normalement continue. La quantité qui en est évacuée dans l'intestin est considérable puisqu'elle atteint un kilogramme, chez l'homme (Bouchard), et chez le chien, 10^{gr},5 par kilo et par jour (Dastre). La circulation entéro-hépatique ramène ce liquide au foie.

J'ai additionné une certaine quantité de toxine à de la bile d'homme, de bœuf, de chien, de lapin ou de cobaye. Ce mélange perd tout pouvoir tétanigène au bout de 15 à 20 minutes à 48°; de 30 à 40 minutes à 38°-39°; de 2 heures à 16°-18°. En moyenne, 1 c. c. de bile neutralise de 20 à 50 doses mortelles pour le

1. Le titrage de son acide chlorhydrique y a décelé une proportion élevée de cet acide : 3,9 pour 1000.

cobaye, dans les délais ci-dessus. La bile[1] s'est montrée à peu près aussi active, quelle que soit son origine (hommes morts de maladies aigües ou chroniques ; animaux sains ou malades ; animaux tétaniques).

D'après Vincenzi, la bile des animaux normaux ne possèderait aucun pouvoir neutralisant sur la toxine tétanique. Ces résultats, non concordants avec les miens, s'expliquent, sans doute, parce que cet auteur employait de trop fortes proportions de toxine. Si, en effet, dans certains cas, le pouvoir antitoxique de 1 c. c. de bile a atteint, dans mes essais, 100 doses mortelles (pour le cobaye), il n'a jamais dépassé ce taux.

Chacun des principaux éléments composants de la bile participe aux propriétés antitoxiques de celle-ci. J'ai préparé des solutions de sels biliaires, de palmitate de soude, de cholestérine et de lécithine aux titres indiqués par les auteurs dans l'analyse chimique de la bile, savoir :

Glycocholate de soude	à 4,85	p. 100	(Ritter).
Taurocholate —	à 2,51	—	(id.).
Palmitate —	à 1,39	—	(Hoppe Seyler).
Cholestérine (sol. éthérée)	à 0,35	—	(id.).
Lécithine (id.)	à 0,53	—	(id.).

1 c. c. de ces solutions a successivement été mélangé avec 20 doses mortelles de toxine. Toutes ces substances ont manifesté un pouvoir neutralisant évident : après 30 à 40 minutes, à la température de 38°, chaque mélange est devenu inoffensif.

Si, afin de préciser quel est, parmi les constituants biliaires, celui qui réclame la plus grande part dans les propriétés antitoxiques de la bile, on augmente la proportion de toxine ajoutée à chaque solution, on constate que les glycocholate et taurocholate de soude, ainsi que la lécithine, sont, *aux titres indiqués ci-dessus*, impuissants à neutraliser 220 à 250 doses mortelles pour le cobaye.

Injectés avec le mélange de cholestérine et de toxine à cette dose élevée, les cobayes n'ont eu qu'un tétanos tardif et fugace.

1. Quelle que soit son origine (animaux sains, malades ou tétaniques), la bile, injectée sous la peau, n'a aucune propriété préventive ou thérapeutique contre le tétanos : elle paraît, cependant, atténuer pendant quinze à trente minutes les spasmes et les contractures. Mais la maladie suit ultérieurement son cours.

La ligature préventive du cholédoque, chez le chien à qui on inocule, quelques jours tard, trois doses mortelles de toxine, retarde un peu l'apparition du tétanos toujours fatal. Le chien dont le cholédoque est ligaturé ou sectionné n'a, il est vrai, qu'un ictère léger.

Enfin les animaux ayant reçu 1 c. c. du mélange de palmitate de soude et de toxine (220 à 250 doses mortelles) n'ont présenté aucun symptôme anormal.

Le cholestérine et les savons biliaires sont donc, vis-à-vis de la toxine tétanique, les principes les plus antitoxiques de la bile. La lécithine et les sels biliaires ont une efficacité moindre. Le taurocholate de soude possède le pouvoir le plus faible [1].

Les pigments biliaires paraissent n'avoir qu'une action antitoxique minime. En effet, la bile de cobaye, qui en est à peu près dépourvue, a montré un pouvoir neutralisant aussi grand que la bile de bœuf.

D'autre part, Dastre et Floresco ont établi l'existence, dans la bile, d'une oxydase thermolabile. Celle-ci participe, sans doute, aux propriétés antitoxiques de la bile, car le poison tétanique est très sensible aux agents d'oxydation ; d'autre part, le chauffage à 100°-120° ou le vieillissement de la bile, fraîche diminuent manifestement, quoique dans une faible mesure, l'action neutralisante de la bile sur la toxine tétanique.

On peut conclure de ces expériences que la *bile joue un rôle important dans la destruction de la toxine tétanique dans l'intestin.*

C. *Influence des sécrétions pancréatiques et intestinales sur la toxine.* — Je dois à l'obligeance de M. A. Frouin, du laboratoire de M. Délezenne, à l'Institut Pasteur, le suc pancréatique et le suc intestinal de chien dont je me suis servi. Je lui adresse mes vifs remerciements.

J'ai fait les essais suivants : une quantité de toxine égale à 100 doses mortelles pour le cobaye est ajoutée à :

a. — 1 c. c. de suc pancréatique ;

b. — 1. c. c. de suc intestinal ;

c. — 1 c. c. de suc pancréatique + 1/2 c. c. de suc intestinal ;

d. — 1 c. c. de suc pancréatique + 1/2 c. c. de suc intestinal + 1/2 c. c. de bile.

Ces quatre mélanges sont abandonnés, pendant 4 heures,

1. Lorsqu'elle est mise en rapport avec la cholestérine, la lécithine, les savons ou les sels biliaires, la toxine semble détruite ou fortement fixée par ces substances. Il n'a pas été possible, en effet, de séparer nettement la toxine du mélange, soit par l'action précipitante du phosphate disodique et du chlorure de calcium, soit par l'alcool absolu, l'acétate de plomb (glycocholate de soude), etc., ou par la dialyse (sels biliaires). Les animaux à qui on injecte les divers précipités présentent cependant, parfois, pendant un ou deux jours, un léger degré de raideur.

à 18°-20°, ou à 38° pendant 30 minutes. On les injecte ensuite à autant de cobayes. Le cobaye témoin, ayant reçu la toxine seule, a eu le tétanos au bout de 30 heures et en est mort un jour après. Pour les autres, le résultat a été le suivant :

Cobaye ayant reçu le mélange *a :* début de tétanos au 3e jour (retard appréciable sur le témoin) ; mort en 48 heures.

Cobaye *b :* début du tétanos au troisième jour (même remarque que ci-dessus) ; forme un peu prolongée de l'affection. Mort au 5me jour ;

Cobaye *c : pas de tétanos ;*

Cobaye *d* : *pas de tétanos.*

Cette expérience a été faite à plusieurs reprises avec les mêmes résultats.

En conséquence, le suc pancréatique frais et le suc entérique frais ont, isolément, sur la toxine, une action légèrement atténuante. Par contre, leur mélange est très antitoxique, surtout à la température de 38°.

Quelle que soit l'influence neutralisante du mélange de suc pancréatique et d'entérokinase, elle n'est pas, cependant, illimitée. Le mélange composé de 3/4 de c. c. de suc pancréatique et de 1/4 de c. c. de suc intestinal neutralise, au maximum, 400 à 500 doses mortelles pour le cobaye.

Si l'on compare l'activité antitoxique de la bile, dont il a été question plus haut, à celle du suc pancréatique activé, le pouvoir de ce dernier est environ trois à cinq fois plus énergique que celui de la bile. Celui du suc gastrique est à peu près équivalent au pouvoir du mélange du suc pancréatique et d'entérokinase.

IV

Les modes d'action, sur le toxine tétanique, du suc gastrique et du suc pancréatique activé sont vraisemblablement analogues : il s'agit, dans l'un comme dans l'autre cas, d'un phénomène de digestion de la toxine.

Si, en effet, avant d'ajouter la toxine, on neutralise le suc gastrique à l'aide d'une solution de soude, on enlève à ce suc gastrique tout son pouvoir antitoxique. L'injection d'une quantité même faible de son mélange avec la toxine, au bout de 2 heures et 4 heures, à la température de 38°, provoque le tétanos

aussi rapidement que chez l'animal témoin. La pepsine perd, en effet, ses propriétés digestives dans un milieu neutre ou alcalin.

Si on ajoute de nouveau une quantité de HCl égale à celle qu'on a neutralisée, le suc gastrique récupère son pouvoir antitoxique.

La sécrétion physiologique pure du pancréas ne possède, comme on sait, aucune action digestive sur les albuminoïdes : mais l'addition d'une faible quantité de kinase intestinale lui communique un pouvoir protéolytique considérable.

Or, pareillement, la toxine tétanique n'est pas détruite par le suc pancréatique seul. Il faut l'intervention simultanée de l'entérokinase pour amener la destruction de la toxine.

Il y a donc un parallélisme remarquable entre le pouvoir antitoxique et le pouvoir digestif du suc pancréatique.

D'ailleurs, si on chauffe à 65°, pendant 30 minutes, le suc pancréatique seul ou activé, et qu'on lui ajoute ensuite une quantité même très faible de toxine, celle-ci conserve tout son pouvoir tétanigène, même après un contact de quatre heures à 38°. Le chauffage isolé du suc intestinal donne le même résultat.

Ainsi qu'on le voit, le même facteur (la chaleur) supprime simultanément la propriété protéolytique et l'action antitoxique du suc pancréatique.

Le rapprochement peut être poussé plus loin. Dans ses importantes recherches sur la digestion des albuminoïdes par le suc pancréatique, Delezenne a montré que le suc pancréatique peut être activé, en l'absence d'entérokinase, par le chlorure de calcium à faible dose. Le même phénomène va-t-il se produire si, au cube d'albumine, on substitue la toxine tétanique?

Dans un certain nombre de tubes contenant un cent. cube de suc pancréatique, on ajoute 0 c. c. 15, 0 c. c. 20, 0 c. c. 25, etc... d'une solution de $CaCl^2$ à 5 p. 0/0. Le tout est mis à l'étuve pendant 45 minutes, puis centrifugé pour se débarrasser du précipité. On verse ensuite dans chaque tube deux gouttes de toxine. Les tubes sont reportés à l'étuve.

Toutes les heures, on injecte le contenu de chaque tube à un cobaye. Or, à partir de la 6me-7me heure de contact, le mélange, qui jusqu'alors était resté tétanigène, a perdu brusquement son action toxique et a continué à se montrer inactif.

La destruction de la toxine s'est donc manifestée exactement dans les mêmes conditions qui ont été signalées par Delezenne à l'occasion du pouvoir digestif du suc pancréatique activé par le chlorure de calcium.

Il semble donc bien que la disparition ou la destruction de la toxine soumise à l'influence du suc pancréatique résulte d'un véritable processus de digestion de cette toxine.

***

Dans son passage à travers la portion sous-diaphragmatique (la seule absorbante) du tube digestif, la toxine tétanique perd donc toute son activité dès quelle se trouve en rapport avec les sécrétions de l'estomac, du foie, de l'intestin et du pancréas. Prise individuellement, chacune de ces sécrétions annihile en trente minutes, et même moins, des proportions énormes de toxine.

On peut donc conclure de ces recherches que le tube digestif, dans son entier, est admirablement protégé contre l'influence malfaisante de certaines toxines microbiennes ; chacun de ses segments est apte à les neutraliser *in situ*, grâce à ses sécrétions. Ainsi s'explique l'innocuité absolue de la toxine tétanique lorsqu'elle est introduite, même à dose considérable, dans les voies digestives.

Certains auteurs ont admis que le microbe du tétanos se multiplierait dans l'intestin des herbivores. S'il en est ainsi, ce qui n'est pas, cependant, démontré, la toxine sécrétée par le bacille de Nicolaier serait rapidement annihilée, au fur et à mesure de sa production, par les ferments digestifs et par la sécrétion biliaire.

Il paraît, d'ailleurs, vraisemblable que la plupart des toxalbumines et des poisons solubles, d'origine complexe, qui prennent naissance dans l'intestin sous l'influence de la multiplication des bactéries qui y foisonnent, sont détruits ou rendus inoffensifs par un processus semblable à celui qui vient d'être établi pour la toxine tétanique. C'est, du reste, une question que je me propose d'étudier prochainement.

Sur la vaccination contre la peste par le tube digestif

VOIE GASTRIQUE ET VOIE RECTALE

Par le Dr GIUSEPPE FORNARIO

(Institut Pasteur de Lille.)

Sur le conseil de M. Calmette, j'ai cherché à réaliser la vaccination contre la peste par le tube digestif.

Déjà en 1902, *Mercatelli*[1] avait eu l'idée d'utiliser la voie gastrique pour immuniser le cobaye. La méthode employée par cet auteur consistait à faire absorber aux animaux, avec leur nourriture ou avec la sonde stomacale, une seule dose de culture en bouillon chauffée à 60° pendant soixante minutes. Dans quelques cas seulement les résultats obtenus furent positifs. J'ai répété ces expériences en employant des cultures sur gélose émulsionnées et chauffées pendant le même temps. Or en variant la quantité de microbes ingérée en une seule fois, aussi bien qu'en répétant plusieurs fois ces ingestions à plusieurs jours d'intervalle, je n'ai pu conférer l'immunité à aucun de mes animaux.

Il était donc nécessaire de reprendre l'étude de cette question en déterminant tout d'abord les conditions de l'infection par les voies digestives (voie stomacale et voie rectale) et en essayant ensuite de suivre, par la mesure de l'index opsonique et par la réaction de Bordet-Gengou, les effets de l'introduction directe, soit dans l'estomac, soit dans le rectum, de cultures virulentes, puis de cultures chauffées à différentes températures ou de bacilles pesteux sensibilisés par la méthode de *Besredka*[2].

C'est cette étude que je me suis proposé d'effectuer.

1. *Riforma medica*, 1902, vol. III, n° 31, p. 362.
2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1902, p. 918.

*
* *

A. *Cultures virulentes.* — Pour toutes mes expériences j'ai employé un bacille pesteux (origine de Blidah) obligeamment fourni par M. J. Binot et provenant des collections de l'Institut Pasteur de Paris. Ce bacille n'a jamais passé par aucune espèce animale.

Les cultures faites sur bouillon de veau gélosé et âgées de 24 heures étaient émulsionnées avec 1 c. c. d'eau salée physiologique pour chaque tube. Leur introduction dans l'estomac ou dans le rectum des lapins ou des cobayes se faisait toujours à la sonde, en prenant toutes les précautions nécessaires pour éviter de blesser les muqueuses. Pour les rats, on préparait une pâte alimentaire constituée par un mélange de fromage et de mie de pain. Cette pâte, stérilisée à l'autoclave, était imprégnée de bacilles virulents ou chauffés, et donnée comme unique nourriture aux animaux.

Par voie hypodermique, la culture virulente tuait en 3 jours le rat blanc à la dose de 1/200 de culture. Par voie stomacale (l'animal étant toujours à jeun), la dose sûrement mortelle en 6 à 7 jours était de 1/10 de culture.

Les cobayes succombaient en 3 jours avec 1/50 et en 6 à 8 jours avec 1/100 de c. c. injecté sous la peau.

Par voie rectale, 1/100 de c. c. et souvent même 1/200 de c. c. tuaient ces mêmes animaux en 4 jours, tandis que par voie stomacale les résultats étaient irréguliers : lorsque l'animal avait été maintenu à jeun depuis 24 heures, l'ingestion d'un quart de culture réussissait toujours à les infecter. Mais si leur estomac était plein d'aliments, 94 0/0 survivaient même à l'ingestion d'une demi-culture.

Pour les lapins 1/100 de c. c. de la culture employée tuait par voie intraveineuse et 3 c. c. par ingestion à la sonde stomacale.

B. *Cultures chauffées.* — Le chauffage des cultures destinées aux essais de vaccination a été effectué au bain-marie, en tubes scellés, après agitation convenable pour assurer l'homogénéité de l'émulsion. Avant de les utiliser on prenait toujours soin de s'assurer si elles cultivaient ou non sur gélose.

J'ai pu constater ainsi que les bacilles chauffés 60 minutes à 61-62° sont incapables de déterminer l'infection lorsqu'on les

injecte même à doses massives, tandis qu'un chauffage de 105 minutes à 53°, de 15 minutes à 56° ou de 35 minutes à 50°, ne suffit pas à supprimer leur vitalité et leur virulence.

Les meilleurs résultats de vaccination par voie stomacale ont été obtenus avec des cultures chauffées pendant 90 minutes à 53°. Pourtant à cette température les microbes sont encore vivants et capables de déterminer l'infection chez 10 0/0 des animaux.

I

VACCINATION PAR VOIE STOMACALE

A. Cultures virulentes : 1° *Rats.* — Il arrive fréquemment que les rats blancs survivent à l'ingestion de doses de culture virulente correspondant à 0 c. c. 25, 0 c. c. 30 et 0 c. c. 50 d'émulsion espacées chacune de 12 jours. Mais sur 3 animaux ainsi traités, 2 succombèrent à l'inoculation sous-cutanée d'épreuve en même temps que les témoins, et un seul survécut.

Six rats d'une autre série ont ingéré successivement, à 12 jours d'intervalle, 0 c. c. 25 et 0 c. c. 50 d'émulsion virulente. Trois résistèrent à l'inoculation d'épreuve.

2° *Lapins.* — a) *Lapin* 3,580 *grammes.* — Résiste à trois ingestions successives de 0 c. c. 1, 0 c. c. 5 et 3 c. c. d'émulsion virulente, respectivement à 6 et 15 jours d'intervalle.

b) *Lapin* 2,500 *grammes.* — Ingère 0 c. c. 25, 6 jours après 0 c. c. 5 et 15 jours après 2 c. c. Il perd 800 grammes de son poids et se rétablit.

c) *Lapin* 2,000 *grammes.* — Ingère 0 c. c. 25, 6 jours après 0 c. c. 5 et 25 jours après 5 c. c. Il meurt 6 jours après la dernière ingestion avec des bacilles pesteux dans tous ses organes.

d) *Lapin* 2,300 *grammes.* — Ingère 1 c. c. d'émulsion, puis 27 jours après 1 c. c. et, 25 jours plus tard, encore 2 c. c. Il succombe 2 mois après la dernière ingestion. Les cultures de la rate et du sang sont négatives. La rate est volumineuse, le foie sclérosé.

e) *Lapin* 2,200 *grammes.* — Ingère 1 c. c. d'émulsion. On constate qu'il est atteint de paraplégie consécutive à une fracture de la colonne vertébrale dans la région lombaire. Il meurt au bout d'une semaine. Au niveau de la fracture il s'est produit

une hémorragie méningée. Le foie et la rate sont volumineux. La culture du sang est positive.

f) *Lapin* 2,100 *grammes*. — Ingère 0 c. c. 25 d'émulsion, puis, 21 jours après, 0 c. c. 5, et 11 jours plus tard encore 0 c. c. 5.

Éprouvé 25 jours après la dernière ingestion par 0 c. c. 02 *in veine* en même temps qu'un témoin, il résiste, tandis que le témoin succombe le 3[e] jour avec une infection pesteuse généralisée.

g) 4 *lapins* pesant respectivement 2,100 grammes, 1,900, 1,850 et 2,250 ingèrent en même temps, toujours à la sonde, 0 c.c. 25, puis, 18 jours après, 0 c. c. 5 d'émulsion. On les éprouve 35 jours plus tard, en même temps qu'un témoin de 2,150 grammes, par l'inoculation intraveineuse de 0 c. c. 02. Le témoin meurt le 3[e] jour. Les quatre autres lapins survivent définitivement.

h) *Lapin* 2,000 *grammes*. — Ingèrent successivement trois doses de 0 c. c. 5 à 25 et 13 jours d'intervalle. Il est éprouvé une première fois, 22 jours après la dernière ingestion par 0 c. c. 02 *in veine*, et une deuxième fois 10 jours plus tard par 0 c. c. 1 d'émulsion virulente également *in veine*. Le témoin de cette seconde inoculation d'épreuve meurt à la fin du 2[e] jour. Le lapin vacciné survit.

i) *Lapin* 2,200 *grammes*. — Ingère deux doses de 0 c. c. 25 à 8 jours d'intervalle, puis deux doses de 0,5, 21 et 13 jours plus tard. Il est éprouvé comme le précédent à deux reprises par l'inoculation intraveineuse de 0 c. c. 02 et 0 c. c. 1 d'émulsion virulente. Il reste également en bonne santé.

3° *Cobayes*. — a) *lots de 4 cobayes chacun* ingèrent respectivement deux fois à 12 jours d'intervalle 0 c. c. 01 + 0 c. c. 1; 0 c. c. 02 + 0 c. c. 25; 0 c. c. 1 + 0 c. c. 5. Tous survivent, mais ils succombent à l'inoculation d'épreuve faite 12 jours plus tard avec 0 c. c. 02 sous la peau.

b) 4 *cobayes* ingèrent 0 c. c. 1, 0 c. c. 5, 0 c. c. 1 à 12 jours d'intervalle. Deux succombent infectés par la troisième dose. Les deux survivants ne résistent pas à l'inoculation d'épreuve de 0 c. c. 02 par voie sous-cutanée.

c) 10 *cobayes* ingèrent une seule fois 0 c. c. 25. Quatre d'entre eux succombent. Au bout d'un mois les six survivants ingèrent encore 0 c. c. 02, puis 0 c. c. 50 après 15 jours, et

encore 1 c. c. 15 jours plus tard. Deux seulement résistent à cette dose énorme et un seul supporte sans mourir l'épreuve par 0 c. c. 02 sous la peau.

d) 10 *cobayes* ingèrent 0 c. c. 5 trois fois à 12 jours d'intervalle. L'un a succombé dès après la première ingestion, un autre après la deuxième et deux après la troisième. Deux seulement des six survivants résistent à l'inoculation d'épreuve par 0 c. c. 02 sous la peau.

D'autres expériences sur les cobayes montrent qu'en faisant absorber à ces animaux, à 12 jours d'intervalle, trois doses respectives de 0 c. c. 5, 0 c. c. 5 et 1 c. c. d'émulsion virulente, 33 0/0 seulement des animaux ainsi traités résistent à l'inoculation d'épreuve sous-cutanée de 0 c. c. 02, toujours mortelle pour les témoins. C'est le maximum des résultats positifs que j'ai pu obtenir dans mes essais de vaccination par voie stomacale avec les cultures vivantes.

B. *Cultures chauffées à 60° pendant 60 minutes.* — 1° *Rats.* Toutes les tentatives de vaccination par ingestion répétées deux et trois fois à 13 ou 11 jours d'intervalle de 0 c. c. 25, 0 c. c. 50, 1 c. c. et 2 c. c. de culture chauffée ont échoué. Aucun animal n'a résisté à l'épreuve d'inoculation sous-cutanée.

2° *Cobayes.* L'ingestion répétée de 0 c. c. 5, 1 c. c. et 2 c. c. à 10 ou 12 jours d'intervalle ne vaccine pas.

C. *Cultures chauffées à 53° pendant 90 minutes.* — *Cobayes.* 8 cobayes ingèrent successivement à 13 jours d'intervalle 0 c. c. 3, 0 c. c. 5 et 0 c. c. 75. Deux succombent à cette période du traitement. Quatre des survivants ingèrent 1 c. c. de culture virulente, non chauffée ; ils résistent. Les deux autres, éprouvés par inoculation sous-cutanée, meurent.

D. *Cultures chauffées à 53° pendant 60 minutes, puis cultures virulentes.* — *Cobayes.* 10 cobayes ingèrent 0 c. c. 5 de culture chauffée et, 10 jours plus tard, 0 c. c. 25 de culture virulente. Deux succombent après la seconde ingestion. Tous les survivants sont éprouvés par voie sous-cutanée : 3 restent indemnes, 1 meurt 10 jours après le témoin, les autres 1 jour avant ce dernier.

5 cobayes ingèrent 0 c. c. 5 de culture chauffée et, 10 jours plus tard, 0 c. c. 25 de culture virulente. Après 14 jours, l'un

est éprouvé par 0 c. c. 02 de culture virulente sous la peau et survit. Après 22 jours, deux autres sont également éprouvés par voie sous-cutanée : ils meurent 14 jours après cette épreuve.

Les deux derniers ingèrent, le 30e jour, 1 c. c. de culture virulente : un survit, l'autre meurt.

9 cobayes ingèrent 0 c. c. 25 + 0 c. c. 5 de culture chauffée + 0 c. c. 25 de culture virulente à 10 jours d'intervalle. Eprouvés 10 jours plus tard par voie sous-cutanée, 5 sur 9 survivent.

4 cobayes ingèrent 0 c. c. 25 + 0 c. c. 5 + 0 c. c. 5 de culture chauffée + 0 c. c. 01 de culture virulente, à 10 jours d'intervalle. Eprouvés 15 jours plus tard par voie sous-cutanée, tous sauf un survivent.

E. *Cultures sensibilisées par la méthode de Besredka.* — 4 rats et 25 cobayes qui ont ingéré des microbes préparés suivant la technique indiquée par Besredka et aussi d'autres animaux que nous avons essayé de vacciner par inoculation sous-cutanée de 1 c. c. d'émulsion de ces mêmes microbes sensibilisés ont succombé, sauf deux cobayes seulement, en même temps que les témoins à l'épreuve d'inoculation sous-cutanée virulente.

D'autres expériences ont montré que les cobayes vaccinés par voie sous-cutanée avec des bacilles chauffés et ayant résisté à l'épreuve virulente, peuvent ingérer impunément pendant 3 mois la dose de 0 c. c. 5 de culture virulente répétée tous les 23 jours. 40 jours après la dernière ingestion, ils gardent une solide immunité et résistent dans la proportion de 10 sur 12 à une nouvelle épreuve d'inoculation sous-cutanée virulente (0 c. c. 01 à 0 c. c. 25).

II

VACCINATION PAR VOIE RECTALE

Pour réaliser ces expériences de vaccination par voie rectale, j'ai injecté à des cobayes des émulsions de cultures virulentes ou chauffées dans le rectum au moyen d'une sonde demi-molle très fine introduite sur une longueur de 8 centimètres environ. L'animal était maintenu en position déclive, la tête en bas, pendant 10 minutes après chaque injection. On évite ainsi presque sûrement le rejet du liquide et, lorsque celui-ci est expulsé, il est facile de s'en apercevoir.

Un premier lot de 5 cobayes reçoit ainsi successivement à 10 jours d'intervalle 0 c. c. 25 et 0 c. c. 75 de culture chauffée 60 minutes à 60°. 15 jours plus tard, l'un d'eux est éprouvé par inoculation sous la peau : il succombe.

Les survivants reçoivent encore dans le rectum deux doses de 0 c. c. 75 et 1 c. c. de la même culture chauffée. Après 10 jours ils sont éprouvés par voie sous-cutanée : 2 survivent et 2 meurent.

6 autres cobayes reçoivent dans le rectum 0 c. c. 25, 0 c. c. 75, 0 c. c. 75 et 1 c. c. de culture chauffée 60' à 60° à intervalles de 10 jours. Éprouvés par voie sous-cutanée avec la culture virulente, 4 résistent et 2 contractent la peste.

Des expériences semblables faites par absorption rectale de cultures chauffées à 53° pendant 90 minutes fournissent des résultats encore meilleurs : sur 11 cobayes 1 succombe infecté après la deuxième dose, 1 après la troisième (0 c. c. 5); 5 résistent à l'épreuve par inoculation sous-cutanée et 2 meurent.

Il est donc possible de conférer aux animaux l'immunité contre la peste en introduisant à deux ou trois reprises dans leur rectum des cultures de bacille pesteux atténuées par le chauffage.

III

RÉACTION DE BORDET-GENGOU CHEZ LES VACCINÉS

Je me suis proposé de rechercher à l'aide de cette réaction :

1° Si, dans le sérum des animaux immunisés par les voies sous-cutanée, gastrique ou rectale, on peut obtenir la déviation de l'alexine ou complément ;

2° Si cette réaction persiste lorsque l'immunité tend à disparaître ;

3° A quelle période de l'immunisation commencent à apparaître les anticorps ;

4° Enfin si, chez les animaux traités mais qui ne résistaient pas à l'épreuve d'inoculation sous-cutanée, il ne se forme pas d'anticorps décelables dans le sérum.

J'ai employé comme sérum hémolytique du sérum de lapins

traités par injections intrapéritonéales de sang de chèvre défibriné et lavé.

L'antigène était fourni par des cultures de bacille pesteux sur gélose, âgées de 24 heures, tenues à la température du laboratoire et émulsionnées à raison de 15 c. c. d'eau physiologique par tube.

L'alexine était empruntée au sérum frais de cobaye.

Dans une première série, j'ai réuni les animaux vaccinés par différentes voies et qui ont été saignés à l'acmé de la période d'immunisation ou dans la phase de décroissance.

Je les divise en deux groupes :

A. — Cobayes soumis avant la saignée à l'épreuve d'inoculation sous-cutanée virulente.

B. — Cobayes non éprouvés avant la saignée.

A. — 1° Cobaye vacciné par voie stomacale avec cultures virulentes, puis éprouvé par voie sous-cutanée. Saigné 14 jours après l'épreuve :

Antigène.	Anticorps.	Alexine.	Sérum hémolyt.	Hémolyse.
0 c. c. 5	0 c. c. 5	0 c. c. 1	0 c. c. 1	—
0,5	0,1	0,1	0,1	—
0,5	0,05	0,1	0,1	—
0,5	0,01	0,1	0,1	—
0,5	0,005	0,1	0,1	+

2° Cobaye vacciné par voie stomacale avec deux doses successives de culture virulente. Eprouvé par voie sous-cutanée. Saigné 28 jours après l'épreuve :

Antigène.	Anticorps.	Alexine.	Sérum hémolyt.	Hémolyse.
0,5	0,5	0,1	0,1	—
0,5	0,2	0,1	0,1	—
0,5	0,1	0,1	0,1	—
0,5	0,05	0,1	0,1	+

B. — 1° Cobaye vacciné par voie rectale avec cultures chauffées 60′ à 60°, non éprouvé par voie sous-cutanée ; saigné 15 jours après la dernière injection rectale :

Antigène.	Anticorps	Alexine.	Sérum hémolyt.	Hémolyse.
0,5	0,5	0,1	0,1	—
0,5	0,2	0,1	0,1	—
0,5	0,1	0,1	0,1	—
0,5	0,05	0,1	0,1	—

2° Lapin vacciné par voie stomacale avec trois doses successives de cultures virulentes. Non éprouvé par voie sous-cutanée. Saigné 15 jours après la dernière injection :

Antigène.	Anticorps.	Alexine.	Sérum hémolyt.	Hémolyse.
0,5	0,5	0,1	0,1	—
0,5	0,2	0,1	0,1	—
0,5	0,1	0.1	0,1	—
0,5	0.05	0,1	0,1	—

3° Lapin vacciné comme le précédent. Non éprouvé par voie sous-cutanée. Saigné 5 mois après la dernière ingestion virulente :

Antigène.	Anticorps.	Alexine.	Sérum hémolyt.	Hémolyse.
0,5	0,5	0,1	0.1	—
0,5	0,2	0,1	0,1	—
0,5	0,1	0,1	0,1	—
0,5	0,05	0,1	0,1	+

Dans une deuxième série d'expériences, j'ai saigné des cobayes 48 heures après la dernière ingestion vaccinale. La réaction de *Bordet-Gengou* a montré la fixation de l'alexine sur

les bacilles pesteux avec des doses de sérum (anticorps) de 0 c. c. 1, alors même que l'animal n'avait ingéré qu'une seule fois ou n'avait reçu qu'une seule fois par voie rectale des bacilles chauffés à 53° pendant 90 minutes.

Les anticorps apparaissent donc très rapidement dans le sérum des animaux auxquels on fait ingérer des cultures de peste, soit virulentes, à petites doses, soit atténuées par le chauffage, alors même que ces animaux sont incapables de résister à l'inoculation d'épreuve par voie sous-cutanée.

IV

MESURE DE L'INDEX OPSONIQUE CHEZ LES VACCINÉS

J'ai employé pour ces déterminations la méthode que j'ai pu étudier au laboratoire de *Saint-Mary's Hospital*, à Londres, grâce à l'obligeance du professeur *Wright*, auquel j'adresse mes meilleurs remerciements pour l'excellent accueil qu'il a bien voulu me faire pendant les quelques jours que j'ai passés auprès de lui.

Les sérums étalons dont je me suis servi étaient des sérums normaux de cobaye et de lapin. Le dénombrement des bacilles phagocytés fut effectué dans tous les cas sur 100 leucocytes.

Les résultats obtenus dans chaque expérience sont résumés dans le tableau suivant :

ANIMAUX	MODE DE VACCINATION	Date de la prise du sang après la dernière injection ou ingestion virulente.	INDEX OPSONIQUE
Cobaye.	Voie stomacale cultures virulentes, épreuve sous-cutanée.	7 jours.	2,8
id.	id.	id.	2,6
id.	id.	id.	2,6
Cobaye.	Voie rectale — cultures chauffée + 53°.	4 jours.	3,8
id.	id.	id.	3,8
id.	id.	id.	2,4
id.	id.	id.	0,8 (+ mort).
id.	id.	id.	3,6
Lapin.	Voie stomacale culture virulente.	3 jours.	2,2
id.	id.	id.	3,2
id.	id.	id.	0,5 (très souffrant au moment de la prise de sang + mort).
COBAYE	Voie rectale cult. chauffée 53° × 90′.	Prise du sang après la 1re injec.	INDEX OPSONIQUE
	0,25	3 jours.	0,7
	0,25	id.	0,7
	Culture 53° × 105,	id.	—
	0,50	id.	0,6
	0,25	id.	0,7
	0,25	id.	0,9

J'ai étudié comparativement les variations du pouvoir opsonique chez 5 lapins vaccinés par voie stomacale par ingestions de cultures virulentes et éprouvés la veille par injection intraveineuse de 0 c. c. 01 de culture virulente, sauf le dernier (n° 5) qui fut éprouvé par inoculation intraveineuse de 0,02. L'index opsonique d'un témoin inoculé avec 0,01 fut également mesuré.

Voici les résultats de cette expérience :

INDEX OPSONIQUE

Dates.	Témoins.	Vaccinés.				
		N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
15 /2 08	0,37	2,1	1,8	1,0	3,0	1,3
16 »	0,35	2,1	1,8	1,1	3,6	1,4
17 »	0,38	2,5	1,6	1,9	0,95	2,7
18 »		1	2,7	2	1,6	2,4
19 »		1,1				
20 »		1,2				2,7
21 »		0,98				
22 »						1,2
23 »						1,0

Aucune phase négative n'a été observée chez les vaccinés tandis que celle-ci fut très accusée chez le témoin qui mourut le 3e jour.

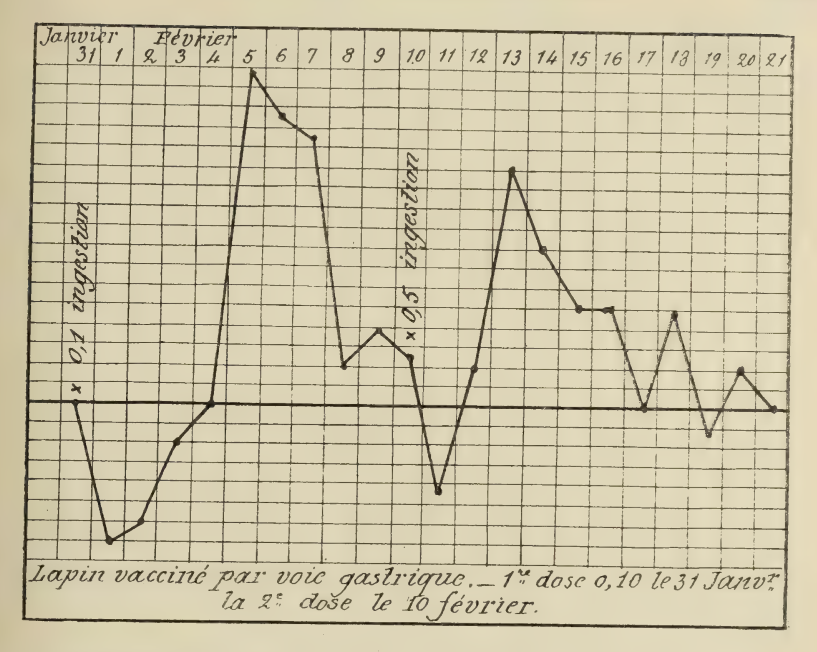
Je reproduis ci-après les courbes opsoniques :

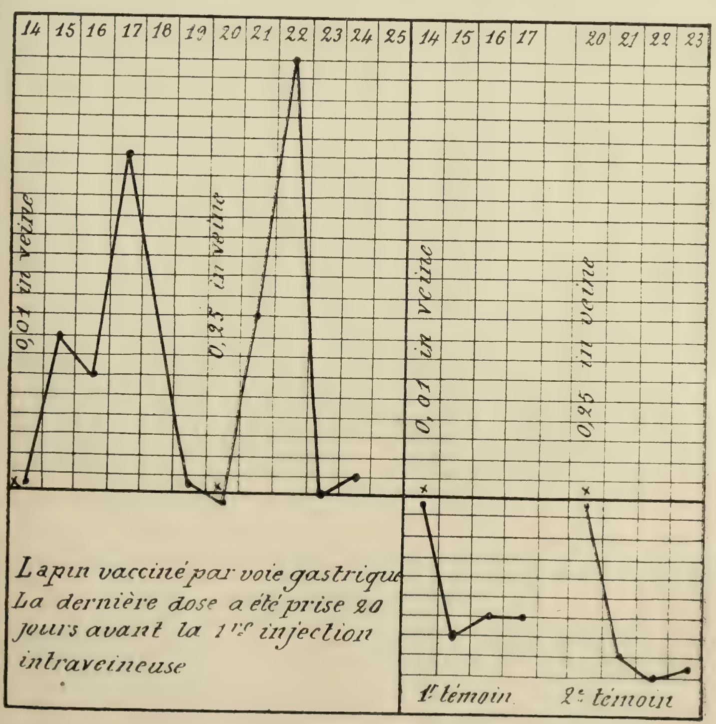
1° D'un lapin qui a ingéré successivement deux doses de culture virulente;

2° D'un lapin déjà vacciné par voie stomacale et auquel j'ai injecté dans les veines 0 c. c. 25 de culture virulente;

3° D'un lapin témoin qui a reçu la même injection intraveineuse.

Ces expériences, et d'autres que je crois inutile de rapporter me permettent de conclure qu'après la première dose de virus ingérée, le pouvoir opsonisant subit une phase négative. Cette phase est proportionnelle à la quantité de virus ingérée. Elle fait défaut et apparaît à peine chez les animaux déjà vaccinés.


Janvier
Février
31 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
× 0,1 ingestion
× 0,5 ingestion
Lapin vacciné par voie gastrique. — 1re dose 0,10 le 31 Janvr.
la 2e dose le 10 février.


14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25
14 15 16 17 20 21 22 23
0,01 in veine
0,25 in veine
0,01 in veine
0,25 in veine
Lapin vacciné par voie gastrique
La dernière dose a été prise 20
jours avant la 1re injection
intraveineuse
1er témoin
2e témoin

V

RÉACTION SPÉCIFIQUE DE L'INTESTIN CHEZ LES ANIMAUX VACCINÉS

Lorsqu'on fait ingérer aux cobayes ou aux rats soit des cultures virulentes, soit des cultures chauffées à doses mortelles, ou lorsqu'on injecte ces cultures soit par voie rectale, soit par voie sous-cutanée, on ne constate jamais de réaction spéciale de l'intestin. Les animaux succombent alors à la septicémie pesteuse, sans que la muqueuse intestinale présente aucun aspect particulier.

Par contre, si l'on injecte sous la peau des doses mortelles de virus pesteux à des animaux précédemment traités en vue d'obtenir la vaccination par la voie stomacale ou rectale, à l'aide de cultures virulentes ou de cultures atténuées par le chauffage, on constate *toujours* chez ces animaux l'apparition d'une réaction congestive de l'intestin tout à fait caractéristique. Cette réaction se manifeste par une rougeur intense, couleur lie de vin, de tout l'intestin grêle, avec entérite hémorragique à laquelle le gros intestin participe souvent, et éruption de petits tubercules miliaires sur toute la surface de ces organes. Souvent même on trouve un épanchement de sérosité sanguinolente dans le péritoine.

Ces lésions s'observent avec la plus grande régularité chez tous les animaux insuffisamment vaccinés qui succombent à l'épreuve par inoculation du virus sous la peau. Dans aucune de mes expériences elle n'a manqué. Je n'essaierai pas pour le moment d'expliquer sa genèse et je me borne à signaler sa constance vraiment remarquable. Elle fait immédiatement penser à la réaction spécifique que présentent les muqueuses chez les tuberculeux lorsqu'on vient à les imprégner de tuberculine (ophtalmo-réation et réaction rectale de Calmette).

VI

VIRULENCE DES DÉJECTIONS DES ANIMAUX VACCINÉS CONTRE LA PESTE PAR LES VOIES DIGESTIVES

La méthode de vaccination étudiée dans le cours de ce travail ne saurait évidemment avoir quelque intérêt pratique

que s'il était démontré que les déjections des sujets qui ont ingéré des cultures virulentes ou atténuées de bacilles pesteux sont inoffensives. Il était donc indispensable de préciser ce point.

Des expériences préliminaires sur des animaux non immunisés montrèrent que, dans tous les cas, les selles évacuées moins de 48 heures après l'ingestion de bacilles vivants sont virulentes pour la souris : elles fournissent toujours des inoculations positives.

Lorsqu'on expérimente dans les mêmes conditions avec les selles d'un animal vacciné par les voies digestives et ayant résisté à l'inoculation d'épreuve par voie sous-cutanée, on constate au contraire que les déjections ne renferment presque jamais de bacilles pesteux :

Un cobaye vacciné par ingestion de cultures chauffées puis virulentes, fut éprouvé par injection sous la peau de 0 c. c. 5 de culture virulente. 20 jours après, l'animal absorbe à la sonde un tiers de culture sur gélose. On recueille séparément toutes les déjections évacuées pendant 48 heures. Celles-ci, émulsionnées avec de l'eau physiologique, sont inoculées sous la peau de 6 souris blanches : aucune ne prend la peste.

Dans une autre expérience identiquement conduite, une seule souris sur 6 succomba : son sang renfermait le bacille pesteux.

Bien que les microbes de la peste soient ordinairement détruits dans l'intestin des animaux vaccinés, puisque les déjections de ces derniers sont virulentes jusqu'au moment où l'immunité est obtenue, on doit donc veiller avec le plus grand soin à leur désinfection : et comme il ne paraît pas possible de conférer l'immunité par l'ingestion ou par l'inoculation rectale de cultures mortes, on ne saurait songer à créer artificiellement, chez l'homme ou chez les animaux sensibles à la peste, l'état réfractaire par l'absorption intestinale de bacilles pesteux même atténués par le chauffage.

CONCLUSIONS

1° On peut conférer au cobaye et au lapin l'immunité contre la peste en faisant ingérer à ces animaux soit de petites doses successives de bacilles virulents, soit des cultures chauffées à

53° pendant 90 minutes. Les deux tiers des animaux ainsi préparés résistent à l'épreuve d'inoculation sous-cutanée sûrement mortelle par les témoins;

2° On peut plus facilement encore conférer l'immunité par injections rectales plusieurs fois répétées de bacilles chauffés, puis virulents;

3° Avec l'une ou l'autre méthode, les ingestions ou injections doivent être espacées chacune de 10 à 14 jours;

4° Chez les animaux vaccinés par l'intestin (estomac ou rectum) on voit apparaître très rapidement les anticorps spécifiques dans le sang. Ceux-ci sont mis en évidence par la réaction de *Bordet-Gengou;*

5° L'index opsonique reste toujours plus élevé chez les mêmes animaux que chez les témoins après une injection virulente, sous-cutanée ou intraveineuse;

6° Les animaux vaccinés par ingestion ou par injection rectale présentent, lorsqu'ils viennent à succomber à l'épreuve par inoculation sous-cutanée de virus pesteux, une réaction congestive très caractéristique de l'intestin;

7° Les bacilles pesteux ingérés sont presque complètement détruits dans le tube digestif des animaux vaccinés.

En terminant ce travail je considère comme un devoir d'exprimer toute ma gratitude à M. le professeur *Calmette* pour l'hospitalité si bienveillante qu'il m'a accordée dans son laboratoire et pour les conseils toujours si précieux qu'il m'a prodigués.

ERRATA

Mémoire de M. Edmond Sergent: Études sur la fièvre méditerranéenne.

Page 227. — Légende, lire : courbe du singe neuf, n° 32.

Page 230. — Légende, lire : courbe du singe, n° 44, dans ce graphique l'agglutination doit être marquée + à partir du 10 août.

Page 232. — Légende, lire : courbe du singe, n° 48.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.



CHARLES CHAMBERLAND

1851 - 1908

Héliog. Dujardin

Phot. Pierre Petit

22me ANNÉE MAI 1908. N°5

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

CHARLES CHAMBERLAND

Charles CHAMBERLAND, sous-directeur de l'Institut Pasteur, membre du comité de direction de ces *Annales* depuis leur fondation, a succombé, après quelques mois de maladie, le samedi 2 mai dernier.

Nous reproduisons, pour les lecteurs des *Annales*, les discours prononcés aux obsèques, au nom de l'Institut Pasteur, par MM. Roux et Darboux, et nous les faisons suivre des travaux publiés par Ch. CHAMBERLAND.

Rappeler les œuvres du savant que nous perdons est le meilleur hommage que nous puissions rendre à sa mémoire.

La Rédaction.

DISCOURS

PRONONCÉ AUX OBSÈQUES, PAR M. ROUX,

AU NOM DE L'INSTITUT PASTEUR

Avec Charles Chamberland disparaît un des meilleurs collaborateurs de Pasteur, un de ceux qui l'ont aidé d'abord à établir une technique rigoureuse, ensuite à accomplir la série de travaux qui, de 1877 à 1886, ont illustré le laboratoire de la rue d'Ulm.

Atténuation des virus et inoculations préventives, étiologie et prophylaxie du charbon, vaccination contre le rouget, vaccination antirabique, telle est l'énumération des grandes découvertes auxquelles Chamberland a pris part.

Il a travaillé avec Pasteur non seulement en collaborateur guidé par le Maître, mais aussi en inventeur apportant sa contribution personnelle à l'œuvre commune.

C'était précisément cet esprit d'invention, joint à un sens critique clairvoyant, que Pasteur appréciait chez Chamberland. Dès qu'il eut reconnu en lui ces rares qualités, il l'associa, tout jeune encore, à ses travaux.

La controverse entre Pasteur et Bastian, qui remettait en question la génération spontanée, éclatait au moment où Chamberland, sorti depuis un an de l'Ecole Normale, entrait au laboratoire de chimie physiologique en qualité d'agrégé-préparateur. Pasteur lui donna mission de rechercher les causes d'erreur dans les expériences du savant anglais ; ce fut pour Chamberland l'occasion de montrer son aptitude à débrouiller les choses compliquées. Il expliqua pourquoi les liquides organiques acides, chauffés à 100°, se conservent sans altération, tandis qu'ils se peuplent de microbes dès qu'on y ajoute assez de potasse stérile pour les rendre alcalins. La température de 100° ne suffit pas à tuer certaines spores; celles-ci restent inactives tant que le milieu est acide, puis germent et pullulent s'il devient alcalin. Pour faire périr ces spores il est nécessaire de chauffer les liquides jusqu'à la température de 115° pendant

vingt minutes. Tout cela paraît aujourd'hui banal à force d'être classique et déjà beaucoup ne savent plus qui nous l'a appris.

En pousuivant l'étude des organismes sporulés résistant à haute température, Chamberland a établi les règles de la stérilisation des milieux de culture. Elles sont exposées dans sa thèse pour le doctorat ès sciences, soutenue en 1879. Celle-ci contient les fondements de la technique bactériologique actuelle.

Pour réaliser commodément la stérilisation des milieux de cultures et du matériel, Chamberland combine un autoclave devenu l'outil indispensable des laboratoires de bactériologie, des services de chirurgie et des postes de désinfection.

Chamberland étudie ensuite comment les parois poreuses retiennent les fins corpuscules en suspension dans les liquides. Il perfectionne les procédés de filtration employés au laboratoire en leur substituant la bougie de porcelaine dégourdie qui, en arrêtant les germes, stérilise les liqueurs altérables par la chaleur. On sait quelles découvertes importantes, notamment sur les poisons microbiens et les organismes ultra-microscopiques ont été rendues possibles par l'usage de la bougie Chamberland.

Pour le bactériologiste actuel, autoclave et bougies filtrantes sont des instruments de première nécessité ; il s'en sert chaque jour ; qu'il donne de temps en temps un souvenir reconnaissant à leur inventeur pour les facilités de travail qu'il lui doit.

L'application de la bougie filtrante à la purification des eaux de boisson a rendu le nom de Chamberland populaire et avec juste raison, parce que cet appareil si simple a économisé nombre de vies humaines.

L'œuvre d'hygiéniste de Chamberland ne se borne pas à l'invention de l'autoclave et du filtre qui portent son nom, il a aussi publié de nombreux essais sur les substances antiseptiques, en vue de reconnaître les plus efficaces pour la désinfection des objets et des locaux.

Chamberland a combattu l'idée de la transmission des germes infectieux par l'air, à un moment où elle était encore très répandue. Il pensait que l'atmosphère joue un bien faible rôle dans la diffusion des infections, il voulait qu'on s'inquiétât moins de l'air et davantage des objets souillés, voire même des

vêtements et des mains des médecins et de leurs aides.

Je n'aurais pas dit tout ce que Chamberland a fait en faveur de l'hygiène si je ne parlais pas de ses travaux comme législateur. En 1885 il était élu député du Jura, il a marqué son passage à la Chambre en y présentant le rapport sur la loi pour la protection de la santé publique, loi dont nous avons attendu si longtemps le vote définitif.

Chamberland était un collaborateur comme Pasteur les aimait, hardi dans la conception et habile dans l'exécution. Aussi dès que la vaccination anti-charbonneuse eût fait ses preuves à Pouilly-le-Fort et dans d'autres expériences publiques, Pasteur lui confia la direction du service des vaccinations. Il s'en remettait au sens pratique de Chamberland pour surmonter les difficultés qui arrêtent si souvent la vulgarisation des découvertes les plus utiles. Les avantages que l'agriculture a tirés, depuis 1881, des vaccinations pastoriennes, prouvent qu'elles ont été en bonnes mains.

Ce qui caractérise l'œuvre scientifique de Chamberland, c'est qu'elle est fertile en applications pratiques. Cependant Chamberland ne répugnait pas aux spéculations scientifiques, il en faisait de hardies et les exposait en leur donnant volontiers un tour paradoxal. C'est surtout pendant les séjours à la campagne, où le retenait souvent le soin de la santé de son fils, qu'il laissait vagabonder son esprit. Il était heureux lorsque, le fusil sur l'épaule, la pipe aux dents, il battait les champs autour de Chilly-le-Vignoble, son pays natal. Fort attentif en apparence à la quête de ses chiens, il combinait sans cesse expériences et appareils. De retour à la maison il tentait de les exécuter avec des moyens de fortune. Ce n'était pas seulement la bactériologie qui occupait cet esprit toujours en éveil. Bon mathématicien, il poursuivait, pour le plaisir, la solution de quelque problème ou imaginait quelque machine. Il avait construit un cadran solaire portatif, facile à orienter et dont les indications sont précises. Il en était aussi fier que de ses meilleurs travaux bactériologiques.

Lorsqu'en 1888 l'Institut de la rue Dutot ouvrit ses portes, Chamberland y fut nommé chef de service, puis il en devint un des sous-directeurs, en 1904, à la mort de Duclaux qu'il remplaça à l'Académie de médecine.

Plus qu'aucun de nos collègues j'ai pu connaître et apprécier Chamberland, car je suis entré chez Pasteur deux années seulement après lui. Duclaux d'abord et Chamberland ensuite furent mes premiers maîtres dans la science expérimentale. De 1878 à 1881, Chamberland et moi avons été les seuls collaborateurs du maître, Thuillier n'étant venu à la rue d'Ulm qu'après nous. La vie près de Pasteur n'était pas inactive; entraînés par l'intérêt des recherches, nous passions tout notre temps au laboratoire, prolongeant le travail fort avant dans la soirée. Nous étions enthousiasmés de la riche moisson que nous ramassions dans les champs inexplorés où nous conduisait Pasteur. Cette vie en commun n'est possible que si l'entente est parfaite entre ceux qui la mènent. Il en était ainsi entre Chamberland et moi. Pendant plus de trente années notre amitié n'a pas connu de défaillances; elle ne pouvait être rompue que par la mort. Et d'ailleurs comment ne pas s'entendre avec Chamberland ? il était le camarade le plus loyal, l'ami le plus sûr qu'on pût souhaiter. Il avait la bonne humeur d'un homme bien portant qui réussit dans ses entreprises et qui le mérite.

A l'époque où je l'ai connu, il était vraiment plaisant à regarder : de haute taille, svelte, avec de beaux traits, éclairés par des yeux doux et rieurs, encadrés d'une barbe noire accentuant l'expression virile de sa physionomie. Toute sa personne annonçait la robustesse et la joie de vivre. Avec les années, l'embonpoint était venu, le teint s'était coloré, mais l'aspect de bonhomie spirituelle de l'homme mûr était aussi séduisant que la gracieuse prestance du jeune homme. Chamberland éveillait la sympathie de tous ceux qui entraient en relations avec lui.

Nos jeunes camarades de l'Institut Pasteur subissaient le charme et se plaisaient à aller causer dans son laboratoire. Ils le prenaient pour confident de leurs projets, de leurs ambitions et parfois aussi de leurs déceptions, car il était de bon conseil et pour les choses de la science et pour celles de la vie.

Chamberland a été un de ces êtres privilégiés qui font le bonheur autour d'eux. Par un juste retour, le bonheur qu'il donnait aux autres lui a été rendu. Malgré sa fin prématurée sa vie est de celles que l'on peut envier. Il a collaboré à l'œuvre admirable de Pasteur, il a produit des travaux per-

sonnels utiles à tous, il a connu par sa famille, par ses amis les joies les plus délicates et les plus solides. Sa robuste constitution l'a garanti de la souffrance jusqu'à la maladie qui vient de nous le ravir. Maladie cruelle qu'il a envisagée avec la force d'âme d'un sage et qui a été adoucie par des amitiés fidèles, surtout par le tendre dévouement de sa femme et les caresses de son enfant. Les siens ont pu dire que son mal a causé le premier chagrin qui leur soit venu de lui.

La douleur de ceux qui ont perdu cet homme d'une si rare bonté ne peut être consolée, mais ils trouveront un réconfort dans la sympathie qui s'élève autour d'eux. Aujourd'hui ce sont les témoins de sa vie de travail qui rendent hommage à Chamberland, demain, à Chilly, sa dépouille sera reçue au pays natal par ses compatriotes qui l'ont connu enfant, qui l'ont vu grandir et qui sont fiers de lui. Puisse ce témoignage d'estime de toute une population adoucir le chagrin de cette mère de 80 ans qui, ayant espéré jusqu'à la dernière heure le retour de son fils convalescent, va se trouver en présence d'un cercueil.

En disant un dernier adieu à Chamberland, au nom de ses collègues, comment ne pas rappeler les collaborateurs de Pasteur prématurément disparus : Thuillier, Raulin, Nocard, Duclaux, Grancher et enfin Chamberland. Que de talents, que de forces évanouies ! La doctrine pastorienne est si féconde qu'elle suscitera des remplaçants aux chercheurs dont le labeur a été interrompu ; mais combien sont à plaindre ceux qui, ayant commencé le voyage avec ces bons compagnons, restent avec le triste devoir de saluer leur cercueil !

DISCOURS DE M. DARBOUX

Président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur.

Sans prendre garde à nos douleurs, la mort ne cesse de frapper autour de nous. Elle éclaircit chaque jour les rangs de ceux qui furent les amis de la première heure ou les disciples fidèles de notre cher et grand Pasteur. Après Duclaux, après le D[r] Grancher, voici que Chamberland nous est enlevé, dans la force de l'âge par un mal qui n'a jamais pardonné. Je n'ai nullement la pensée de revenir sur ce que vous a dit, avec tant d'émotion, mon cher confrère le D[r] Roux, de sa belle carrière scientifique si étroitement liée à celle du maître qui avait su l'attirer par son génie et le retenir par la confiance et l'affection : je voudrais seulement rappeler devant ce cercueil dont nous allons nous séparer la dette de reconnaissance que le conseil et l'assemblée de l'Institut Pasteur ont contractée envers Chamberland.

Dès 1875, après un court passage dans l'enseignement secondaire, il était devenu préparateur du laboratoire de la rue d'Ulm où Pasteur ne tarde pas à apprécier tout son zèle, toute son habileté. C'est au dévouement de Chamberland, en même temps qu'à celui du D[r] Roux, que le maître fit appel quand il entreprit ces mémorables et difficiles travaux qui devaient renouveler les bases même de la médecine et aboutir à la triomphante expérience de Pouilly-le-Fort. Aussi lorsqu'en 1888, après le succès des expériences sur la rage, fut ouvert cet établissement de la rue Dutot qui, sur l'initiative de l'Académie des Sciences, devait porter le nom glorieux « d'Institut Pasteur », c'est à Chamberland que fut confié dès le début le service si important de la vaccination contre le charbon. Il prenait part, ai-je besoin de le dire, à tous nos travaux. Son caractère aimable, son esprit pondéré, ce bon sens pratique qui lui a permis d'appliquer de la manière la plus heureuse et la plus utile bien des idées de Pasteur, lui avaient assuré parmi nous une autorité exceptionnelle. En 1904, après la mort de

Duclaux et sur la proposition du Dr Roux, nous l'avions choisi pour remplir une place de sous-directeur. Son souvenir vivra parmi nous, nous le proposerons en exemple à nos jeunes successeurs. Il aura eu le grand mérite, mérite essentiel dans toute œuvre qui se fonde, de contribuer à former l'esprit de notre maison, cet esprit qui assure l'avenir; car il est fait de concorde et de dévouement à l'œuvre commune, et il associe la recherche scientifique la plus active et la plus pénétrante à la bienfaisance dans ce qu'elle a de plus délicat et de plus désintéressé.

LISTE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES PUBLIÉS

Par Ch. CHAMBERLAND

1° En collaboration avec M. Pasteur.

1878. — *La théorie des germes et ses applications à la Medecine et à la Chirurgie* (Comptes rendus, t. LXXXVI, p. 1037, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. VII, p. 432), avec la collaboration de M. Joubert.

1878. — *Sur le charbon des poules* (Compte rendus, t. LXXXVII, p. 47), avec la collaboration de M. Joubert.

1878. — *Sur l'étiologie du charbon.* (Comptes rendus, t. XCI, p. 86, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. IX, p. 682), avec la collaboration de M. Roux.

1880. — *Sur le non-récidive de l'affection charbonneuse* (Comptes rendus, t. XCI, p. 531, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. IX, p. 983).

1881. — *Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage* (Comptes rendus, t. XCII, p. 159, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 94), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Sur la longue durée de la vie des germes charbonneux* (Comptes rendus, t. XCII, p. 209), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Longue durée de vie et conservation des germes charbonneux dans les terres cultivées* (Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 144), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence* (Comptes rendus, t. XCII, p. 429, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 311), avec collaboration de M. Roux.

1881. — *Constatation des germes du charbon dans les terres de la surface des fosses où l'on a enfoui des animaux charbonneux* (Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 308), avec la collaboràtion de M. Roux.

1881. — *De la possibilité de rendre les moutons réfractaires au charbon par la méthode des inoculations préventives* (Comptes rendus, t. XCII, p. 662), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Le vaccin du charbon.* (Comptes rendus, t. XCII, p. 666), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Sur la rage* (Comptes rendus, t. XCII, p. 1259, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 717), avec la collaboration de MM. Roux et Thuillier.

1881. — *Comptes rendus d'expériences sur la vaccination charbonneuse* (Comptes rendus, t. XCII, p. 1378), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Expériences de Pouilly-le-Fort sur la vaccination charbonneuse.* (Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. X, p. 782), avec la collaboration de M. Roux.

1882. — *Nouveaux faits pour servir à la connaissance de la rage* (Comptes rendus, t. XCV, p. 1187, et Bull. Ac. de Méd., 2e série, t. XI, p. 1440), avec la collaboration de MM. Roux et Thuillier.

1884. — *Sur la rage* (Comptes rendus, t. XCVIII, p. 1229, et Bull. Ac. de Méd., 2e série. t. XIII, p. 337 et 662), avec la collaboration de M. Roux.

2° En collaboration avec M. le Dr Roux.

1881. — *De la non-existence du* Microzyma cretæ (Comptes rendus, t. XCII, p. 1165).

1881. — *Sur la non-existence du* Microzyma cretæ (réponse à une note de M. A. Béchamp). Comptes rendus, t. XCII, p. 1,347).

1883. — *Sur l'atténuation de la virulence de la bactéridie charbonneuse sous l'influence des substances antiseptiques* (Comptes rendus, t. XCVI, p. 1088).

1883. — *Sur l'atténuation de la bactéridie charbonneuse et de ses germes sous l'influence des substances antiseptiques* (Comptes rendus, t. XCVI, p. 1410).

1887. — *Vaccination charbonneuse des lapins* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 513).

1887. — *Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 561.)

1888. — *Immunité contre le charbon, conférée par des substances chimiques.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. II, p. 405.)

3° En collaboration avec M. Joubert.

1876. — *Note sur la fermentation des fruits plongés dans l'acide carbonique* (Comptes rendus, t. LXXXIII, p. 354).

4° En collaboration avec M. le professeur Strauss.

1882. — *Passage de la bactéridie charbonneuse de la mère au fœtus.* (Comptes rendus, t. XCV, p. 1290.)

1882. — *Recherches expérimentales sur la transmission de maladies virulentes aiguës de la mère au fœtus.* (Soc. de Biologie, 7e série, t. IV, p. 683.)

1882. — *Recherches expérimentales sur la transmission de quelques maladies virulentes, en particulier du charbon, de la mère au fœtus.* (Archives de physiologie, p. 436.)

5° En collaboration avec M. E. Fernbach.

1893. — *La désinfection des locaux.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. VII, p. 433 ; résumé dans la Revue scientifique, t. LI, p. 559.)

6° En collaboration avec M. Jouan.

1906. — *Les pasteurella.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. XX, p. 81).

7° M. Chamberland a publié en outre :

1879. — *Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques.* (Thèse de doctorat, Annales scientifiques de l'École normale supérieure, 2e série, t. VII, Supplément.)

1879. — *Résistance des germes de certains organismes à la température de 100° ; conditions de leur développement.* (Comptes rendus, t. LXXXVIII, p. 659.)

1883. — *Le charbon et la vaccination charbonneuse, d'après les travaux récents de M. Pasteur.* (Bernard Tignol, éditeur.)

1884. — *Sur un filtre donnant de l'eau physiologiquement pure.* (Comptes rendus, t. XCIX, p. 247.)

1885. — *Sur la filtration parfaite des liquides.* (Société de Biologie, 8e série, t. II, p. 117.)

1887. — *Les essences comme antiseptiques.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 153.)

1887. — *Résultats de la vaccination charbonneuse.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 301.)

1894. — *Résultats pratiques des vaccinations contre le charbon et le rouget, en France.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. VIII, p. 161.)

8° Conférences.

23 janvier 1881. — *Sur les travaux de M. Pasteur.* — A la Société industrielle du Nord de la France, à Lille. (Danel, imprimeur.)

1er avril 1882. — *Rôle des microbes dans la productian des maladies.* — A la Sorbonne. Association scientifique de France. (Gauthier-Villars, imprimeur-libraire.)

1883. — Un article : *L'œuvre de Pasteur.* (Revue scientifique, t. XXXII, p. 97.)

1887. — *Rapport sur le traitement anti-rabique.* (Congrès international d'hygiène et de démographie tenu à Vienne, en 1887.

1888. — *Les divers modes de la contagion.* — Rouen. (Revue scientifique, t. XLI, p. 329.)

Chamberland (Charles-Édouard) est né à Chilly-le-Vignoble (Jura), le 12 mars 1851 ; après avoir fait de bonnes études classiques au lycée de Lons-le-Saunier, il suivit le cours de mathématiques spéciales au collège Rollin à Paris et fut admis en 1871 à l'Ecole polytechnique et à l'Ecole normale, il opta pour cette dernière.

Voici l'énumération des titres scientifiques qu'il a obtenus et des fonctions qu'il a remplies.

1° Titres scientifiques.

1871 à 1874. Elève de l'École Normale supérieure.
1874....... Agrégé des sciences physiques.
1879....... Docteur ès-sciences physiques.
1881....... Lauréat de la Société centrale d'Agriculture. (Prix Béhague).
1883....... Membre de la Société de Biologie.
1885....... Lauréat de l'Institut. (Prix des Arts insalubres.)
1904....... Membre de l'Académie de Médecine.

2° Fonctions.

1874-1875. Professeur au lycée de Nîmes.
1875-1879. Agrégé-préparateur au laboratoire de M. Pasteur.
1879-1888. Directeur-adjoint du laboratoire de M. Pasteur.
1888-1904. Chef de service à l'Institut Pasteur.
1904...... Sous-directeur de l'Institut Pasteur.

Recherches sur la mélanogénèse : Action de la Tyrosinase sur la Tyrosine

Par M. GABRIEL BERTRAND

Les études entreprises depuis une douzaine d'années sur le mécanisme de la *mélanogénèse*, c'est-à-dire sur le mode de production des pigments noirs dans les liquides et les tissus de l'organisme, végétal ou animal, ont déjà fourni, comme résultat intéressant, la preuve qu'une diastase oxydante, la tyrosinase, joue un rôle essentiel dans le phénomène. Du moins a-t-on reconnu qu'il en est ainsi dans le noircissement des sucs de racines de betteraves et de tubercules de dahlia, du champignon appelé Russule noircissante [1], de l'hémolymphe [2] et des téguments [3] de certains insectes, dans la formation de la sépia ou encre de seiche [4], des tumeurs mélaniques chez le cheval [5], de la coloration du pain bis [6], etc.

1. Gab. Bertrand, Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant, d'origine végétale. *Bull. Soc. chim.*, 3e série, t. XV, p. 791 (1896), et *C. r. Ac. Sc.*, t. CXXII, p. 1215 (1896).

Id. La coloration du jus de betteraves et les ferments solubles oxydants. *Bull. Assoc. des Chimistes*, t. XIV, p. 19 (1896).

Dans une publication antérieure, nous avions, M. Bourquelot et moi (*C. r. Soc. biol.*, 10e série, t. II, p. 582, 1895), attribué la coloration du suc de Russule noircissante, exposé au contact de l'air, à l'intervention d'un ferment oxydant. Nous n'avions pu reconnaître alors s'il s'agissait d'une oxydation diastasique directe, si, au contraire, il y avait, par suite de l'hydrolyse préalable d'un glucoside analogue à l'arbutine, production d'un chromogène sensible à la laccase. C'est probablement d'après cette publication que certains auteurs, éloignés en général de la lecture des travaux chimiques par leurs préoccupations, ont associé mon ancien collaborateur à la découverte de la tyrosinase. Mes recherches systématiques prouvent, au contraire, que j'ai introduit seul la notion de la tyrosinase dans la science. D'ailleurs, malgré la démonstration que j'ai faite de la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc des champignons, M. Bourquelot n'en a pour ainsi dire jamais tenu compte.

2. O. von Furth et Schneider, Ueber tierische Tyrosinasen *Beit. z. chem. Physiol. Pathol.*, t. I, p. 229 (1901). Ce mémoire renferme un cours historique de la question.

3. C. Gessard, Sur la tyrosinase de la mouche dorée. *Comptes rendus Ac. d. Sc.*, t. CXXXIX, p. 644 (1904).

4. Przibram, cité par v. Fürth et Schneider.

C. Gessard, Tyrosinase animale. *Comptes rendus Soc. biol.*, t. LIV, p. 1304 (1902).

Id. Sur les oxydases des Seiches. *Comptes rendus Ac. Sc.*, t. CXXXVI, p. 631, (1903).

5. C. Gessard, Sur la formation du pigment mélanique dans les tumeurs du cheval. *Comptes rendus Ac. d. Sc.*, t. CXXXVI, p. 1086 (1903).

6. G. Bertrand et W Mutermilch, Recherches sur le mode de coloration du pain bis. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXI, p. 833. (1907). Voir aussi *C. r. Ac. Sc.* et *Bull. Soc. Chimiq.* de la même année.

Dans la plupart des cas étudiés, c'est la tyrosine, provenant soit de l'hydrolyse diastasique d'une matière protéique (pain bis), soit d'une réaction encore inconnue, qui est transformée sous l'influence de la tyrosinase et qui donne, par suite d'une oxydation incomplète, naissance au pigment mélanique. Dans les autres cas, au contraire, la substance chromogène n'a pas encore pu être identifiée ni même obtenue.

J'ai examiné, à la fois pour faciliter l'étude de ces derniers cas et pour éclaircir certaines questions connexes, la manière dont le ferment soluble oxydant se comporte vis-à-vis de diverses substances voisines de la tyrosine, substances dont plusieurs se rencontrent dans les cellules de l'organisme.

La tyrosine ou acide p-oxyphénylaminopropionique :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2 - CH < \begin{matrix} NH^2 \ldots\ldots (^1) \\ CO^2H \end{matrix} \\ OH \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (^4) \end{matrix}$$

a d'abord été, en quelque sorte, décomposée pièce à pièce, c'est-à-dire qu'on a préparé, soit en simplifiant cette substance, soit à l'aide de méthodes synthétiques, toute une série de corps dont chacun représente une des étapes de la désintégration complète de la molécule primitive.

Ainsi, par distillation dans le vide, à la température d'ébullition du mercure (360°), on a provoqué la séparation du carboxyle et obtenu la p-oxyphényléthylamine :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2 - CH^2.NH^2 \\ OH \end{matrix}$$

Diverses méthodes, plus ou moins connues, ont donné la p-oxyphénylméthylamine :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2NH^2 \\ OH \end{matrix}$$

et la p-oxyphénylamine[1] :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} NH^2 \\ OH \end{matrix}$$

Ensuite, les dérivés dépourvus du groupement NH^2, c'est-à-dire les acides p-oxyphénylpropionique :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2 - CH^2 - CO^2H \\ OH \end{matrix}$$

1. Cette dernière se trouve dans le commerce; on l'a simplement purifiée. Il en a été de même pour l'acide p-oxybenzoïque, le p-crésol et le phénol.

p-oxyphénylacétique :

$$C^{6}H^{4}<\begin{matrix}CH^{2}-CO^{2}H\\OH\end{matrix}$$

et p-oxyphénylcarbonique (ou p-oxybenzoïque) :

$$C^{6}H^{4}<\begin{matrix}CO^{2}H\\OH\end{matrix}$$

La liste de ces corps a été complétée par celle de tous les composés correspondants, à partir de la phénylalanine :

$$C^{6}H^{5}-CH^{2}-CH^{2}<\begin{matrix}NH^{2}\\CO^{2}H\end{matrix}$$

jusqu'à l'acide benzoïque :

$$C^{6}H^{5}-CO^{2}H$$

qui sont exempts de l'oxhydrile phénolique. Enfin, on a ajouté à la liste la chaîne latérale isolée, c'est-à-dire l'alanine :

$$CH^{3}-CH^{2}<\begin{matrix}NH^{2}\\CO^{2}H\end{matrix}$$

avec ses divers débris, ainsi que le p-crésol :

$$C^{5}H^{4}<\begin{matrix}CH^{3}\\OH\end{matrix}$$

et le phénol :

$$C^{5}H^{5}.OH$$

deux corps trouvés dans l'urine et dans les produits de putréfaction des matières protéiques qui doivent, d'après Baumann, être considérés comme les derniers termes de la simplification biochimique de la tyrosine.

Chacun de ces corps a ensuite été soumis en solution aqueuse, à la dilution d'une molécule-gramme dans 100 litres, à l'action de la diastase oxydante.

Je me suis servi dans toutes ces expériences, de la tyrosiniase extraite du son de froment, qui est, comme je l'ai montré avec M. W. Mutermilch [1], exempte de laccase.

J'ai utilisé aussi, dans une série d'expériences parallèles, la macération glycérinée de *Russula Queletii* Fr.

Cette macération, très active, renferme, à côté de la tyrosinase, une forte proportion de laccase [2]. Les résultats qu'elle

1. *Loc. cit.*

2. Gab. Bertrand, *Compte rendu. Ac. Sc.*, t. CXXIII, p. 463 (1896), et *Bull. Soc. chim.*, 3e série, t. XV, p. 1218 (1896).

fournit ne peuvent donc être attribués à la tyrosinase que si des essais particuliers avec le ferment de l'arbre à laque démontrent la non-intervention de la seconde oxydase.

Pour n'y plus revenir, je dirai que la tyrosinase du champignon se comporte qualitativement comme celle du son de froment, à la condition, toutefois, d'ajouter un peu de sel de calcium ou de magnésium, par exemple, une partie de chlorure pour cent de macération glycérinée. Autrement, comme la macération de Russule est pauvre en sels terreux et magnésieux et qu'on en met très peu, une goutte par centimètre cube, dans chaque essai, la teinte finale tarde un peu à se montrer et, avec les corps qui donnent un précipité melanique, celui-ci n'apparaît pas, ou seulement d'une façon partielle.

Ces remarques étant faites, je reviens aux expériences réalisées avec la tyrosinase du son de froment, c'est-à-dire à celles qui, étant les plus simples, sont les plus démonstratives.

Dans chacune de ces expériences, 2 c. c. de la solution du corps à examiner étaient additionnés d'un demi-centimètre cube de solution de tyrosinase à 2 0/0. L'activité de celle-ci était telle qu'avec la tyrosine une teinte rose apparaissait nettement après une dizaine de minutes et la coloration noire déjà après 4 à 5 heures. On avait soin de préparer aussi des mélanges témoins avec de la tyrosinase dont la solution avait été rendue inactive par un chauffage de 5 minutes dans l'eau bouillante. Enfin, pour éviter l'influence paralysante des fonctions basiques ou acides sur le ferment, on a employé les corps basiques à l'état de chlorhydrates et les corps acides à l'état de sels ammoniacaux.

L'oxydation diastasique s'est manifestée par des colorations plus ou moins rapides et intenses avec les corps suivants :

NOMS DES CORPS	COLORATIONS
Tyrosine	Rouge grenadine, puis noir d'encre.
p-oxyphényléthylamine	Rouge grenadine, puis noir olivâtre (1).
-oxy phénylméthylamine	Jaune orangé, rouge orangé, puis marron clair.
p-oxyphénylamine	Orangée, rouge acajou, puis brune.
Acide p-oxyphénylpropionique	Jaune orangé, rouge grenadine, puis brune.
— p-oxyphénylacétique	Jaune, jaune orangé, puis brune.
— p-oxybenzoïque	(Faible) rose, orangée, puis jaune.
p-crésol	Jaune, orangée, puis rouge.
Phénol	Jaune, orangée, rouge, puis brune.

Au contraire, la phénylalanine [2], la phénylméthylamine, les acides phénylaminoacétique, phénylpropionique et phénylacétique, l'alanine, le glycocolle, etc., n'ont donné aucune coloration.

Comme il est facile de le remarquer, les seuls de tous les corps examinés qui soient oxydables par la tyrosinase renferment un oxhydrile phénolique ; c'est donc sur ce point de la molécule que doit, vraisemblablement, porter l'oxydation diastasique. La grandeur et la nature de la chaîne latérale paraissent n'avoir, dans la limite des cas observés [3], qu'une influence secondaire ; pourvu que cette chaîne ne soit pas trop fortement acide ou basique, elle n'empêche pas l'oxydation. Aussi est-il possible de compliquer encore cette chaîne latérale sans enlever aux produits obtenus le caractère de l'oxydabilité diastasique.

L'éthyltyrosine :

$$C^6H^4 <^{CH^2 - CH <^{NH^2}_{CO^2 - C^2H^5}}_{OH}$$

1. Von Fürth et Schneider ont fait réagir la tyrosinase extraite de l'hémolymphe des insectes sur la p-oxyphényléthylamine, mais comme ils ont opéré en milieu alcalin et que, dans ce cas, la substance s'oxyde déjà seule avec une extrême rapidité, ils ont obtenu une coloration jaune brun presque instantanée *Beitrag. z. chem. Physiol. Pathol.*, t. I, p. 235 (1901)]. D'autre part, Bougault, cité par Harley [*Thèse Ecol. sup. Pharm.* Paris, 1900], aurait observé une coloration rouge, unique et persistante de l'acide p-oxyphénylpropionique par l'extrait glycériné de Russule.

2. La l-phénylalanine naturelle et r-phénylalanine synthétique.

3. Lorsque la chaîne latérale est aldéhydique (aldéhyde p-oxybenzoïque), il n'y a plus de coloration.

la chloracétyltyrosine :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2 - CH < \begin{matrix} NH - CO - CH^2CL \\ CO^2H \end{matrix} \\ OH \end{matrix}$$

et la glycyltyrosine :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} CH^2 - CH < \begin{matrix} NH - CO - CH^2NH^2 \\ CO^2H \end{matrix} \\ OH \end{matrix}$$

sont oxydées et colorées par le ferment soluble avec une extrême facilité.

La première donne une coloration orangée, puis jaune orangé, jaune d'or et enfin une opalescence jaune sale, verdâtre. La deuxième, à la condition d'être transformée en sel neutre, car elle est fortement électro-négative, se colore en jaune d'or, en orangé foncé, puis en rouge intense. Enfin, la dernière devient jaune, puis orangée et, à la fin, d'un rouge acajou très foncé.

La glycyltyrosine est, comme on sait, un dipeptide, c'est-à-dire un des représentants les plus simples de cette longue série de corps, formés par l'association d'acides aminés, qui comprend, d'après E. Fischer [1], toutes les matières protéiques. Elle est dédoublable, comme ces matières protéiques, par certaines diastases hydrolysantes et donne, dans ce cas, une molécule de glycocolle et une molécule de tyrosine. Aussi est-il nécessaire, avant d'admettre son oxydation directe par la tyrosinase, de s'assurer qu'elle ne subit pas de dédoublement préalable au cours de l'expérience.

On peut déjà observer que le polypeptide ne se colore pas exactement comme la tyrosine ; il devient jaune avant de passer au rouge orangé ; à la fin, la solution est rouge acajou et ne donne lieu à aucun précipité. S'il y avait dédoublement préalable, on devrait obtenir les mêmes colorations qu'avec la tyrosine, puis un précipité noir, car, l'expérience le prouve, le glycocolle ne modifie pas l'action de la diastase oxydante sur la tyrosine.

1. *Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine* (Berlin, 1906).

Mais on peut démontrer l'oxydation directe de la glycyltyrosine en faisant agir sur ce polypeptide une tyrosinase exempte de ferment protéolytique. On se sert pour cela d'une solution aqueuse des diastases du son; par un chauffage modéré, on détruit la gluténase qui s'y trouve, en respectant, au moins en partie, la tyrosinase. [1] Mieux encore, on prend la macération glycérinée, de *Russula Quelitii Fr*, qui, très riche en tyrosinase, ne dédouble pas la glycyltyrosine. Ce dernier point a été établi en faisant réagir dans un tube spécial à deux branches, complètement débarrassé d'oxygène, 1/2 c. c. de l'extrait glycériné sur $0^{gr},100$ de dipeptide dissous dans 2 c. c. d'eau. Après 5 jours de contact, il n'y avait pas encore trace visible de tyrosine mise en liberté [2]. Lorsque, après cette attente, on a laissé rentrer l'air en ouvrant le tube, la coloration a commencé aussitôt, exactement avec la vitesse et les variations de couleur d'un mélange témoin, préparé au moment même, avec des quantités égales d'extrait glycériné et de dipeptide [3].

Les résultats obtenus au cours des recherches que je viens d'exposer, vont, une fois encore, à l'encontre du principe trop absolu de spécificité que l'on était en droit d'attacher il y a quelques années et que l'on attache encore assez généralement aujourd'hui aux actions diastasiques. Loin d'être limitée à la tyrosine, l'action oxydante de la tyrosinase s'étend, en effet, comme celle de la laccase ou comme l'action hydrolisante de la maltase, de l'émulsine et de la lipase, à tout un groupe de composés définis. Le réactif diastasique, dont l'action paraissait d'une spécificité absolue quand on se bornait à l'étudier dans ses rapports avec le principe immédiat attaquable à côté duquel on l'avait découvert, n'a plus qu'une action spécifique relative quand on vient à reconnaître la fonction ou la structure chimique qui rendent le principe immédiat tributaire de son activité.

Conformément à ces résultats, on ne devra plus, pour iden-

1. La tyrosinase du son ou thermostabiltyrosinase est, en effet, contrairement à celle du champignon, très résistante à l'influence destructive de la chaleur.

2. La glycyltyrosine donne par hydrolyse 72 0/0 de tyrosine. Comme la solubilité de cette dernière dans l'eau froide est seulement de 0,05 0/0, on voit que le mélange aurait pu se prendre en masse solide si le dédoublement avait été tant soit peu avancé.

3. J'ai vérifié, d'autre part, l'inactivité complète de la laccase sur le dipeptide.

tifier un chromogène avec la tyrosine, se contenter de la double coloration en rouge orangé, puis en noir sous l'influence de l'air et de la diastase. La plupart des corps que j'ai examinés donnent la double coloration. Celle-ci est, il est vrai, presque toujours un peu différente, quelquefois jaune au début, d'une teinte tirant plus ou moins sur le brun ou sur l'acajou, à la fin. Mais on peut craindre l'atténuation de ces différences dans certains milieux complexes, déjà colorés ou mal connus. Il faudra donc toujours tenter la séparation du chromogène à l'état pur, le caractériser par quelques-unes de ses constantes physiques ou chimiques.

Ces résultats suggèrent aussi une réflexion à propos de certains produits d'oxydation fournis par la tyrosinase. Le jeu des réactions diastasiques auquel la matière protéique peut être soumise dans l'organisme doit tendre, le plus souvent, à donner la mélanine la plus simple, celle qui dérive de la tyrosine; mais il est possible et même probable que, d'autres fois, l'oxydation doit porter sur des termes moins avancés de l'hydrolyse, c'est-à-dire sur des polypeptides à tyrosine, ne renfermant déjà plus ou renfermant encore du soufre, contenant même quelquefois du fer, etc. L'étude des propriétés et de la composition des pigments mélaniques retirés des poils, de la choroïde, de certaines tumeurs, a fourni jusqu'ici des résultats assez divergents.[1] Ne semble-t-il pas que ces divergences, loin d'être toutes explicables par les difficultés d'extraction et de purification des matériaux d'études, tiennent quelquefois à la nature du dérivé protéique qui subit l'action de la tyrosinase?

Enfin, ces résultats soulèvent une question assez intéressante, celle de savoir si, dans les matières protéiques sur lesquelles n'agit pas directement la tyrosine, l'oxhydrile phénolique de la tyrosine est libre ou combiné. Contre la première hypothèse parlerait plutôt la manière assez générale avec laquelle l'organisme des animaux supérieurs neutralise à l'état de sulfoconjugués les corps phénoliques qu'on y introduit ou qui s'y forment par putréfaction intestinale ou autrement. En faveur de la seconde, au contraire, serait plutôt la production, par le tube digestif[2], d'une diastase dédoublant le salol en phénol et

1. Voir en particulier les recherches récentes de von Fürth et de Jerusalem. (*Beit. chem. Physiolo. Pat.*, t. X, p. 131, 1907.)
3. A. Bonanni, *Jahresb. Tierch.*, t. XXIX, p. 102 (1899).

en acide salicylique, capable, par conséquent, d'hydrolyser un produit dû à la condensation d'un oxhydrile phénolique avec un carboxyle. Il paraît donc vraisemblable d'admettre, dans la matière protéique, un mode de liaison qui n'a pas encore été entrevu entre la tyrosine et les acides aminés.

Etudes épidémiologiques et prophylactiques du paludisme

Sixième campagne en Algérie — 1907 [1]

PAR LES Drs EDMOND SERGENT ET ÉTIENNE SERGENT,

AVEC LA COLLABORATION DE MM. LES Drs

AUCAIGNE, BONNAFÉ, BORIES, CLAUDE, CUBRY, DANVIN, DESCRIMES, M. ELLIKER, Drs GIUDICELLI, LÉCUYÉ, LEROY, MARBOT, DE MOUZON, PAGÈS, PLANTIER, POMMAY, RIBET, M. RIPERT, Dr SUSINI, M. TAILHANDIER.

Comme dans nos précédents rapports [2], notre exposition comprendra une partie générale où seront résumés en un ordre synthétique les résultats de nos observations et expériences de l'année 1907, et une partie spéciale, donnant tous les détails de la campagne en courtes monographies de régions ou localités.

PARTIE GÉNÉRALE

SOMMAIRE

1o Seront passées en revue, dans *l'étude épidémiologique*, ce que nous appelons les *conditions* d'une épidémie de paludisme :

Les gîtes à Anophélines (avec tout ce qui se rapporte à la Biologie de ces Moustiques);

Le réservoir de virus (les anciens infectés, principalement les indigènes).

Les sujets exposés, dont la race, le nombre, le genre de vie, la prospérité matérielle, les intérêts agricoles et l'importance économique sont à considérer dans toute entreprise prophylactique.

2o *L'étude prophylactique* s'occupe des : *Difficultés de la prophylaxie*, leurs causes et leurs remèdes.

Procédés de la prophylaxie :

1. Eloignement des gites à Anophélines et du réservoir de virus;

2. Mesures antilarvaires, grandes et petites;

2 *bis*. Mesure contre les Moustiques adultes;

1. Campagne dirigée pour le compte du gouvernement général de l'Algérie, par ordre de M. le Gouverneur général Jonnart.

2. Voir *Annales de l'Institut Pasteur*, depuis 1902, et *Atti. d. Soc per gli Studi sulla Malaria*.

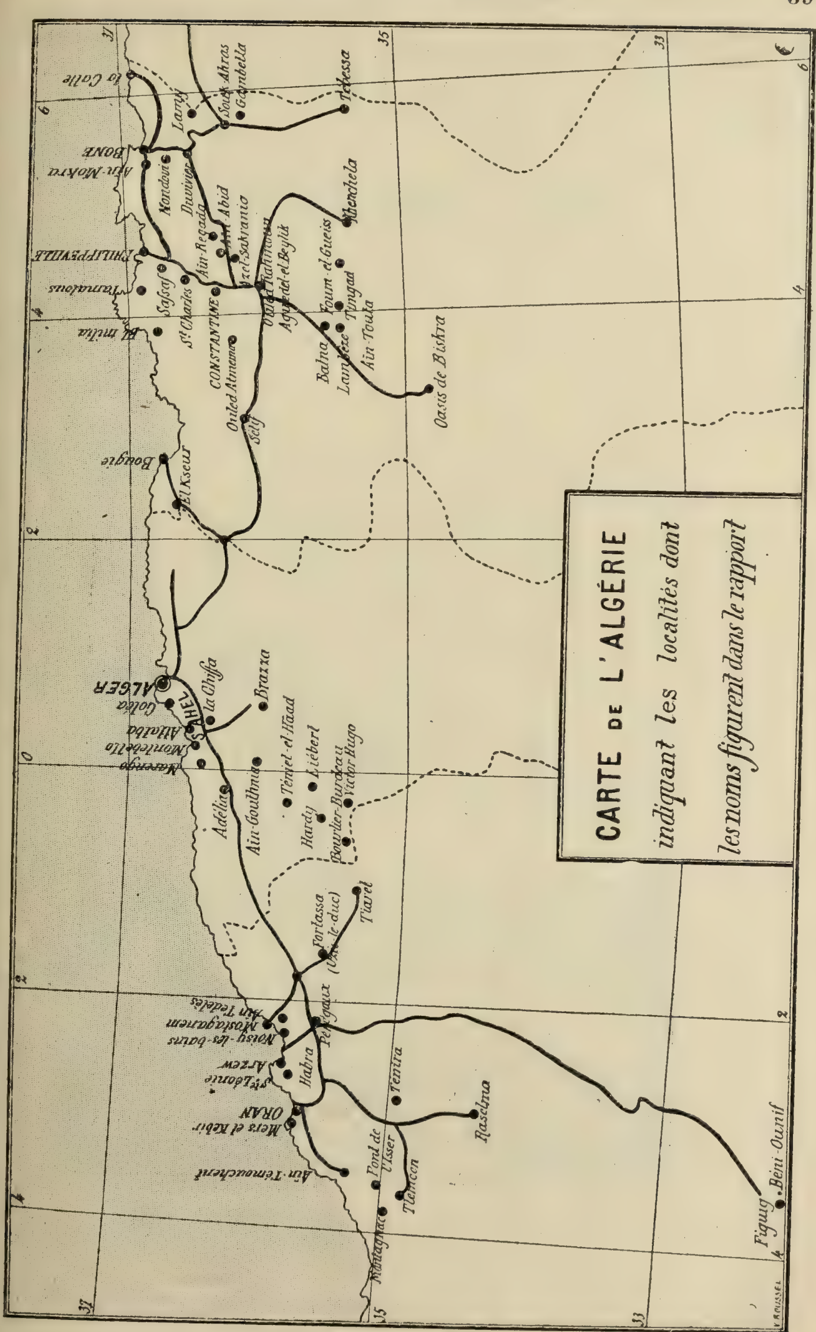

CARTE DE L'ALGÉRIE
indiquant les localités dont
les noms figurent dans le rapport
la Calle
BONE
Aïn-Mokra
Mondovi
Duvivier
Lamy
Souk-Ahras
Gambetta
Tebessa
Khenchela
PHILIPPEVILLE
Jemmapes
Saf-Saf
St Charles
Aïn-Regada
CONSTANTINE
Oulad Rahmoun
Aïn-Abid
Ouled Atmenia
El milia
Foum-el-Gueiss
Timgad
Batna
Lambèse
Aïn-Touta
Oasis de Bisktra
Sétif
Bougie
El Kseur
ALGER
SAHEL
Coléa
la Chiffa
Attatba
Montebello
Marengo
Brazza
Adélia
Aïn-Goulhnic
Téniet-el-Haad
Liébert
Hardy
Bourlier-Bureau
Victor Hugo
Tiaret
Forlassa
Perrégaux
Aïn Tédelès
Mostaganem
Noisy-les-bains
Arzew
Habra
Ste Léonie
ORAN
Mers el Kébir
Aïn-Témouchent
Ténira
Raselma
Pont de l'Isser
Tlemcen
Nemours
Figuig
Beni-Ounif

Fig. 1.

3. Quininisation ;
4. Défense mécanique (collective et personnelle) ;
Modes d'évaluation des résultats de la prophylaxie ;
Propagande antipaludique.

ETUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

En l'absence de statistique sérieuse, l'impression générale est que l'épidémie de 1907 a été au moins aussi grave que celle de 1906, dans le département de Constantine, tandis que, dans

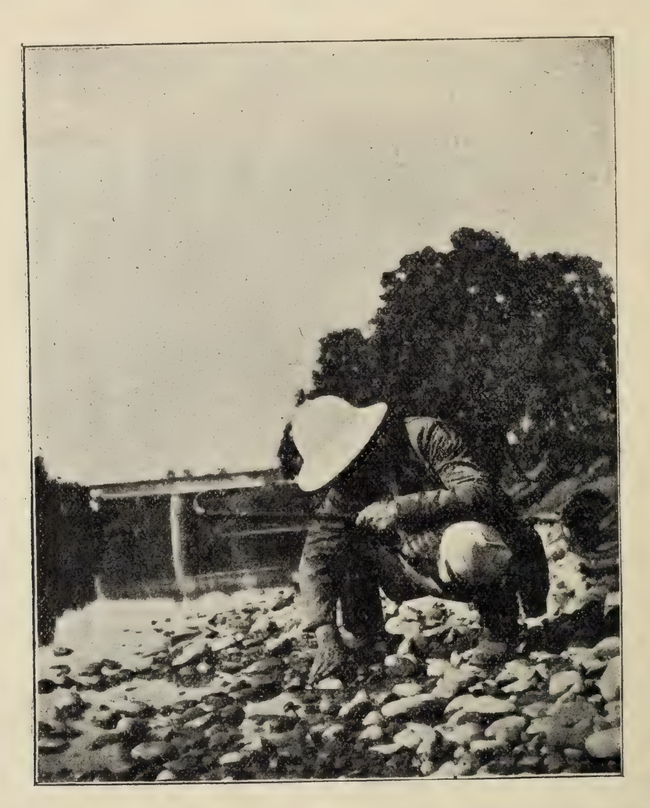


Fig. 2. — Gites à *Pyretophorus myzomyifacies* entre les cailloux roulés de la berge d'une rivière.

les deux autres départements, l'épidémie de 1907 a été plutôt moins grave que celle de 1906.

I. GITES A ANOPHÉLINES

1° *Pluies*. L'hiver de 1906-07 a été marqué, dans le département de Constantine, par des pluies abondantes suivies d'inondations exceptionnelles qui coïncident avec la création de gîtes inexistants en 1906 (par exemple à Mondovi et à Gambetta) et avec l'apparition d'un paludisme assez grave;

2° *Effet des orages sur les gîtes*. Les averses violentes du début de l'automne balaient en quelques instants les gîtes des lits d'oueds torrentueux (O. Chiffa), mais, dans la même région, n'ont aucune influence sur les gîtes des cuvettes des bas-fonds (lac Halloula);

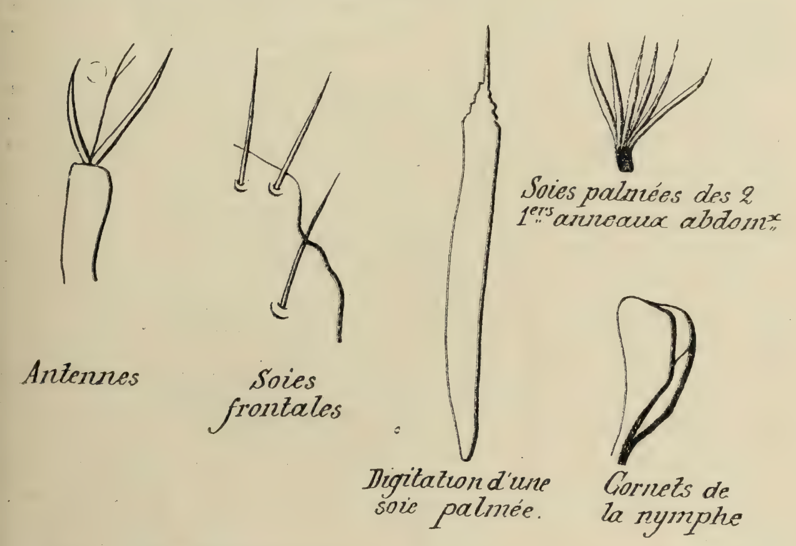


Fig. 3. — Détails de l'anatomie externe de la larve et de la nymphe de *Pyretophorus myzomyifacies*.

3° *Suintements*. Les années très pluvieuses, comme celle de 1906-07, dans le département de Constantine, ne voient pas forcément se créer d'immenses marais, mais nous avons remarqué l'apparition d'une multitude de petits suintements, ne méritant même pas le nom de sources, qui amènent pourtant une redoutable augmentation des gîtes à Anophélines. Dans ces petits gîtes d'eau pure, les Algues et les Spirogyres croissent avec rapidité et fournissent une abondante nourriture aux larves; d'autre part, ces suintements ne contiennent naturellement pas de poissons : les larves peuvent donc pulluler en paix! Le chercheur ne trouve parfois ces gîtes qu'à l'improviste : sous son pied un galet qui roule découvre un minuscule aquarium peuplé de larves et de nymphes (fig. 2);

4° *Elevage des Anophélines*. Grâce à une nourriture très riche (macération de haricots verts dans l'eau), des larves d'Anophélines nées en aquarium de laboratoire sont arrivées à l'état adulte en 16 jours à la température moyenne de 26° à 29° à Alger;

5° *Refuges des adultes*. Nous insistons sur la prédilection des *Anopheles maculipennis* adultes pour les coins sombres des écuries. Ces Anophélines piquent d'ailleurs les animaux domestiques ;

6° *Longueur du vol et transport*. A Montebello, où les mesures antilarvaires sont prises, les Anophélines adultes sont toujours très rares dans le village. A trois kilomètres, dans la ferme M (où aucune mesure antilarvaire n'est prise) pendant tout l'été, des myriades d'Anophélines adultes ;

7° *Cheminement des Anophélines par étapes*. En automne 1907, des Anophélines apparurent dans les quartiers nord et ouest du village de Mondovi, à environ un kilomètre à l'intérieur de la zone où les mesures antilarvaires étaient parfaites. Ces quartiers sont ceux qui sont les plus rapprochés des gîtes non attaqués, et entre ces quartiers et ces gîtes sont échelonnées quelques constructions qui ont pu servir aux Moustiques de refuges d'étape ;

8° *Effet du vent*. Les mesures antilarvaires exécutées dans un périmètre de 1,500 mètres de rayon à Mondovi et Penthièvre ont presque fait disparaître en été les Anophélines adultes de ces villages. La croyance, très répandue parmi les colons, du transport de ces Moustiques, par le vent, du lac Fetzara (à 20 kilomètres environ de Mondovi, à 10 kilomètres environ de Penthièvre), doit donc être considérée comme injustifiée ;

9° *Pouvoir infectant des Anophélines*. Un jeune garçon de 10 ans a contracté une fièvre grave (parasite de la fièvre maligne) après avoir passé une seule nuit à l'embouchure de l'oued Zouhr (région d'El-Milia, département de Constantine) et après une incubation de 8 jours.

En 1906, un habitant de Teniet-el-Haad (localité saine) ayant passé une nuit à Liébert (très malsain cette année) est frappé huit jours plus tard de paludisme à allure grave.

Un Macaque, exposé aux piqûres de myriades d'Anophélines durant 12 jours à Aïn-Dahlia, localité très fiévreuse près du lac Fetzara, n'a pas été infecté ;

10° *Piqûre des Anophélines indolore*. Le 16 septembre 1907, à 5 heures du matin, nous avons observé cinq *Anopheles maculipennis* se gorgeant de sang à satiété sur la main d'un voyageur endormi dans un wagon de la ligne Bône-Aïn-Mokra-Saint-Charles, au passage de la gare de l'Oued-Zied. On s'explique donc que des personnes de bonne foi affirment n'avoir pas été piquées par des Moustiques, bien qu'en réalité elles aient été piquées pendant le sommeil ;

11° *Observations sur les Anophélines d'Algérie*. Nous avons remarqué que des Anophélines peuvent ne pondre *à la fois dans le même gîte* que quelques œufs (2 ou 3). Cette constatation peut faire comprendre la dissémination de la même espèce d'Anophéline dans une localité.

Nous donnons ci-dessous, d'après 16 spécimens arrivés à la période prénymphale, la description de la *larve* de *Pyretophorus myzomyfacies* Theob., qui n'avait pas encore été faite.

Aspect général. Corps trapu, brun clair ou jaune, mais avec la *tête noire* (aspect caractéristique).

Antennes. Epines terminales égales. 1 poil bifurqué à l'extrémité.

Soies frontales. Toutes simples.

Soies palmées. Rudimentaires sur les 2 premiers anneaux de l'abdomen, bien développées sur les autres anneaux. Présence d'un filament court. Rayon d'environ 66 μ. Longueur proportionnelle du filament à la longueur totale : en moyenne 1/8.

Habitat. Vallées montagneuses du Tell algérien. Lits caillouteux des oueds.

Saison. De fin juin à novembre. (Plus tardives que les larves d'*Anopheles maculipennis*).

Nymphe. — Cornets respiratoires trapus.

A Beni-Ounif de Figuig (Zousfana), M. le Dr Foley a étudié les Anophélines de la région qui sont tous des *Pyretophorus chaudoyei* Theob., mais présentant cette particularité de porter trois raies sur le *mesonotum* (comme *P. myzomyifacies*) au lieu de deux seulement comme les *P. chaudoyei* de Touggourt.

Nous avons capturé à Biskra un *Pyretophorus* présentant tous les caractères du *myzomyifacies*, sauf ceux des taches de la côte de l'aile. (Voir figure 4.)



Fig. 4. — Taches du bord de l'aile d'un *P. myzomyifacies* de Biskra.

Le distingué entomologiste M. Chevreux, près de Bône, a bien voulu nous communiquer que, durant tout l'hiver 1906-07, jusqu'en février, il a été attaqué par des *A. maculipennis* en plein jour. (Exemplaires capturés le 10 décembre à 11 heures du matin, le 29 décembre à 2 heures du soir, le 8 janvier, à 3 heures du soir, le 15 janvier après-midi, le 21 février à 1 h. 45 du matin.)

L'un de nous a été assailli le 27 décembre 1907, à 11 heures du matin, en plein soleil, au Hamma, près d'Alger, par 8 *Anopheles algeriensis*. Dans un bassin voisin rempli de Papyrus, les larves d'Anophélines étaient nombreuses. Nous avons constaté autrefois qu'elles y hivernent.

II. — RÉSERVOIR DE VIRUS

Comme les années précédentes, nous avons toujours trouvé une concordance parfaite entre les indications fournies par l'index endémique relevé tel que nous le préconisons par la palpation des grosses rates, et tous les autres renseignements que l'on peut obtenir sur l'intensité du paludisme en un lieu. Le

grand avantage de notre index endémique est de se baser sur un signe physique, que l'on peut même représenter par une figure, telle que les schémas reproduits ci-dessous. On peut ainsi conserver la notation exacte des états successifs d'une même rate à différentes époques et, par suite, constater d'un coup d'œil une amélioration, un état stationnaire ou une aggravation.

Les tableaux suivants résument nos recherches d'index endémiques

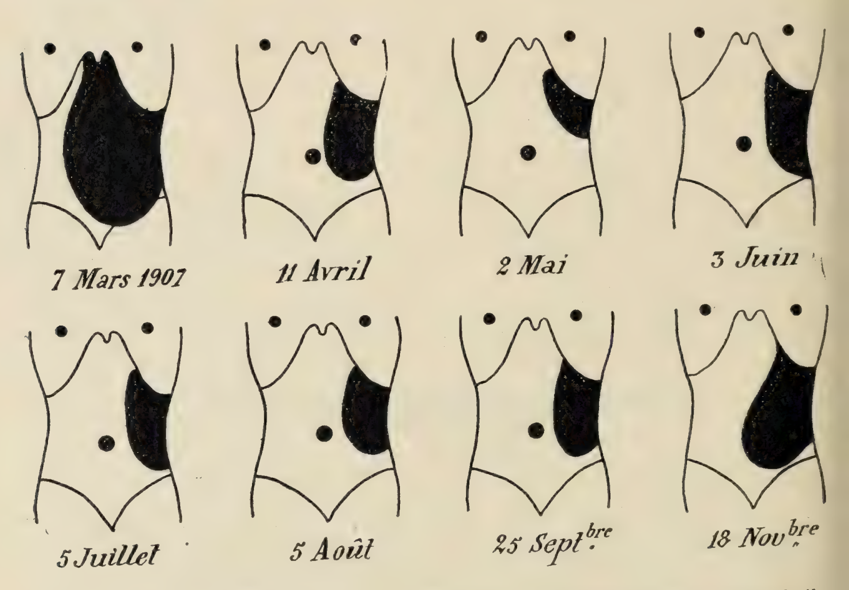


Fig. 5. — Variations du volume de la rate chez un jeune Européen de Montebello (P. B.) infecté depuis 14 ans, ne se traitant pas régulièrement par la quinine, cachectisé, et présentant des corps en pessaire et en demi-lune dans le sang

par les rates, en 1907, *d'une part avant les chaleurs, d'autre part pendant et après les chaleurs.*

La technique que nous avons décrite pour la palpation des rates (le sujet debout se penche en avant [1]) nous donne toujours satisfaction, et a eu l'approbation de nombreux médecins qui l'ont adoptée.

1. « Penche-toi en avant » se dit, suivant les contrées, en arabe : *tati, tabess* (féminin *tebsi*), ou bien : *tekki rasek* (penche la tête), *ahoud rohak* (baisse ton corps).
En kabyle : *ikenou*, ou bien *taïnez*. A Figuig, les Berbères disent *iness*.

Index du début des chaleurs.

PROPORTION DES GROSSES RATES				POURCENTAGE
Enfants.	De 0 à 5 ans..	300/ 961	1112/ 3.534	1,4 0/0
	De 6 à 10 ans..	597/1447		
	De 11 à 15 ans..	215/1126		
Adultes (au-dessus de 15 ans)........			430/ 1.670	25,7 0/0
Total...........................			**1.542/5.204**	**29,5** 0/0

Ces rates ont été palpées du 1er mars au 1er août, dans les localités suivantes :

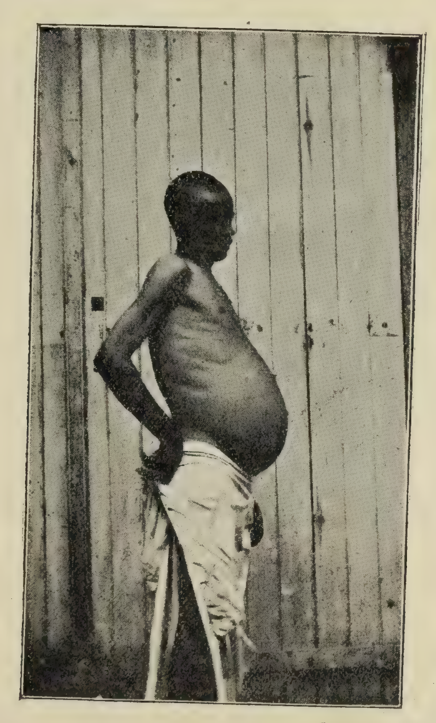


Fig. 6. — Grosse rate chez un indigène adulte (à Penthièvre).

Département d'Alger : Montebello, Marengo, El-Affroun, La Chiffa, Attatba, Oued-el-Alleug, Berbessa, Koléa, Boufarik, Blida, Bouinan, Birtouta, Gué-de-Constantine, Mahelma, Chebli, Arba, Sidi-Moussa, Cheragas, Brazza;

Département de Constantine : Mondovi, Barral, Penthièvre, Ain-Mokra, bords du lac Fetzara, Oum-Teboul, Roum-el-Souk, bords du lac Tonga,

Gambetta, El-Milia, Tamalous, Mesker, El-Ouara, Dar-Debagh, Ain-Chenia, Haddeda, Ain-Mekfel, Bouzouili, Aguedel-el-Baylik, Sidi-Mançar, Timgad, Lambèse, Markouna;

Département d'Oran : Tourville, Sainte-Léonie, Kléber, domaine de l'Habra, Ain-Tedélès et douars voisins, Pont-de-l'Isser, Saint-André-de-Mers-el-Kébir.

Index des chaleurs et de la fin des chaleurs.

PROPORTION DES GROSSES RATES			POURCENTAGE
Enfants.	De 0 à 5 ans... 180/703	762/ 2.374	32,09 0/0
	De 6 à 10 ans... 302/946		
	De 11 à 15 ans... 280/725		
Adultes (au-dessus de 15 ans).........		201/ 744	27,01 0/0
Total..........................		**963/3.118**	**30,8** 0/0

Ces rates ont été palpées, du 1er août 1907 au 30 janvier 1908, dans les localités suivantes :

Département d'Alger; Montebello, Marengo, El-Affroun, La Chiffa, Attatba, Oued-el-Alleug, Berbessa, Koléa, Boufarik, Blida, Bouinan, Birtouta, Chebli, Arba, Sidi-Moussa, Chéragas, Brazza, Liébert, Maatkas, Souma, Gué-de-Constantine ;

Département de Constantine : Mondovi, Barral, Penthièvre, Aïn-Mokra, bords du lac Fetzara, Gambetta, El-Milia;

Département d'Oran : Tourville, Sainte-Léonie, Domaine de l'Habra, Aïn-Tedélès et douars voisins, Pont-de-l'Isser, Béni-Ounif, Zénaga.

1° Tableau des résultats des examens microscopiques du sang de sujets habitant des localités paludéennes (jusqu'au 31 décembre 1907).

NOMBRE D'EXAMINÉS	PARASITÉS par l'hématozoaire.			Corps en demi-lunes.	Corps en pessaires.	Avec grosse rate.
	Tierce maligne	Tierce bénigne	Quarte.			
26 fébricitants.....	4	7	3	2	2	18
188 non fébricitants.	10	35	5	10	9	141
Totaux. **214**	**14**	**42**	**8**	**12**	**11**	**159**
	60 à hématozoaire du paludisme.					

La question de l'unité ou de la pluralité du paludisme ne sera résolue que lorsqu'on pourra étudier durant plusieurs saisons successives les parasites du paludisme, non pas seulement en un même lieu, mais *chez les mêmes individus*.



Fig. 7. — Grosses rates chez des enfants indigènes (de 5 à 7 ans) des bords du lac Fetzara (Aïn-Mokra).

2° *Détail de technique : Mode de repérage des préparations.* — Nous avons obtenu de bons résultats du mode suivant de repérage : A. On prépare à l'avance une provision de fragments de lamelles couvre-objets. Sur chaque fragment on dessine un très petit cercle : il suffit pour cela de faire une tache d'encre, de la laisser sécher, et d'en gratter le centre avec une épingle, on peut ainsi avoir un cercle aussi petit qu'on le désire. B. On assujettit la lame solidement sur la platine avec les deux valets. On place le point de la préparation à repérer au centre du champ du microscope. C. On remplace l'objectif à immersion par un objectif faible (n 4° Stiassnie par exemple). D. On

dépose une goutte de baume de Canada sur la face du fragment de lamelle où est marqué le cercle (bien sec). On colle cette face sous la



Fig. 8. — Grosse rate étranglée par la constriction de la ceinture. (Enfant indigène des bords du lac Fetzara.)

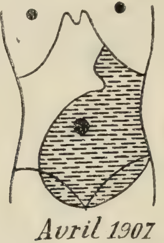


Fig. 9. — Schéma de la rate photographiée ci-dessus.

lame (en enlevant l'éclairage Abbé). On place le centre du cercle au centre du champ du microscope en faisant glisser la lamelle sur la face inférieure de la lame. Laisser sécher.

Pour retrouver le point repéré, placer le centre du cercle au centre du champ de l'objectif 4, puis examiner avec l'objectif fort.

2° M. le Dr Ribet nous a montré à Perrégaux, département d'Oran, un cas de *bilieuse hémoglobinurique*, en novembre 1907. Nous résumons ci-dessous l'observation de M. Ribet :

Un colon de 24 ans, d'origine espagnole, né et ayant toujours vécu à Perrégaux, a été atteint il y a 7 ans d'une fièvre rémittente d'une durée de 3 mois. Au mois d'août 1907, il est allé travailler à « la Planète » qui est la localité témoin de la campagne antipaludique de l'Habra (voir ci-dessous), et y contracta une fièvre peu grave cédant à des doses de 50 centigrammes de quinine. Cette fièvre ne se montrait plus que par petits accès isolés, et ce colon était rentré dans la ville relativement saine de Perrégaux, lorsque, le 24 novembre à 4 heures du matin, sans qu'il ait absorbé depuis 1 mois et demi ou 2 mois, ni quinine, ni aucun autre médicament, il est pris d'un frisson violent avec vomissements bilieux, ictère, urines hémoglobinuriques, fièvre et courbature intense. Le foie et la rate sont tuméfiés (débordant d'un travers de doigt) et douloureux. La quinine est administrée seulement à partir du 26, à la dose de 50 centigrammes par jour, mais par prises fractionnées dans une potion à l'extrait mou de quinquina (8 grammes). Le 27, les urines ne sont plus hémoglobinuriques. Toutefois, l'état général empire, et, le 28, devient tout à fait misérable. Les urines étant tout à fait claires, M. Ribet fait une injection de 25 centigrammes de quinine, en sus de l'administration par la bouche de la dose journalière du médicament. Le malade meurt dans la soirée sans qu'il y ait eu de nouveau hémoglobinurie.

Cette observation, bien prise par le Dr Ribet, s'ajoute donc à celles déjà nombreuses qui montrent que la fièvre bilieuse hémoglobinurique vraie existe dans l'Afrique du Nord. Dans ce cas, la quinine ne paraît pas avoir été la cause déterminante de l'accès ; bien plus, administrée avec autant d'à-propos que de prudence par le Dr Ribet, elle n'a pas causé de rechute d'hémoglobinurie. L'insuffisance hépatique était manifeste, et c'est elle qui a causé la mort.

L'examen du sang, prélevé le 28 novembre à 9 heures du matin, donne résultats suivants :

8,3 hématies pour un leucocyte.

Hématoblastes : 14,41 pour 100 hématies.

Hématies nucléées : 1,85 pour 100 hématies.

Polynucléaires : 61,04 pour 100 leucocytes.

Grands mononucléaires : 20,93 %.

Petits mononucléaires : 3,48 %.

Intermédiaires entre petits et grands mononucléaires : 14,53 %.

Pas de *Plasmodium* du paludisme.

3° Les *corps en pessaire* et les *corps en demi-lune* ont été retrouvés encore assez communément dans le sang des paludéens cachectisés.

Nous avons vu 12 fois les corps en demi-lune et 11 fois les corps en pessaire sur 214 examens de sang de personnes habitant des localités paludéennes.

Nous avons vu, en particulier, les pessaires et les demi-lunes dans le sang d'un jeune Européen de 24 ans, habitant Montebello depuis 14 ans,

cachectisé depuis cette époque, réformé par le conseil de révision, et qui, malgré tous les conseils et l'exemple même d'indigènes, ne prend que très peu et très irrégulièrement la quinine. La figure 5 montre les variations du volume de la rate de ce jeune homme durant l'année 1907.

4o *Action nulle de la salicine sur les* Plasmodium. — Expérimentation avec le Dr SERFATY (médecin de colonisation). Un cas de tierce bénigne à l'Hillil, (département d'Oran) n'a été traité par aucun médicament. On voit dans le sang d'assez rares grosses formes de tierce bénigne. Le malade prend (*per buccam*) 7 grammes de salicine en une fois. L'examen du sang est pratiqué 2, 4, et 16 heures plus tard : les grosses formes de tierce bénigne sont retrouvées en même nombre et même état.

5o *Localisation du virus et de la virulence.* — On connaît une foule de localités où le paludisme sévit, avec une intensité particulière, alors qu'à une distance très proche, et dans une région de même structure, le paludisme est nul ou bénin. On peut considérer qu'il y a ainsi des aires bien limitées de diffusion d'un même virus. Cette localisation tient sans doute au peu de portée du vol des Anophélines, dont le terrain de parcours est, lui aussi, toujours restreint.

6o *Endémie palustre grave, avec parasites rares dans le sang périphérique.* — Les 7 et 16 septembre, sur les bords du lac Fetzara (Tell bônois), l'index par les grosses rates est élevé : 37 rates hypertrophiées chez 39 examinés. La population n'est pas quininisée. On ne trouve que chez 4 personnes, sur 39, le *Plasmodium* de la tierce bénigne.

Au contraire, le 13 septembre, aux Ouled-Rahmoun (Hauts-Plateaux constantinois) nous trouvons 30 grosses rates chez 52 indigènes, mais 13 fois nous voyons des parasites : 11 fois ceux de la tierce bénigne, 2 fois celui de la tierce maligne, et 4 fois des corps en demi-lune.

7o Nous avons observé chez des enfants indigènes paludéens de nouveaux cas, assez nombreux, des *macules* que nous avons signalées dans notre dernier Rapport[1]. Rougeâtres, ne s'effaçant pas sous la pression du doigt, elles ressemblent à des piqûres de Puces, mais s'en distinguent par la localisation : cou et paupière supérieure. Les indigènes connaissent ces taches, qu'ils nomment *dî âdes*.

Notre confrère le Dr G. COLIN, bien connu comme savant arabisant, a bien voulu nous donner les renseignements suivants pour lesquels nous lui présentons tous nos remerciements : « Cette expression signifie littéralement *aux lentilles;* le mot « maladie » est ici sous-entendue, comme cela se produit la plupart du temps dans la terminologie nosologique des Arabes. Les mots *dî âdes* correspondent donc, comme formation et comme valeur, au terme de *lentigo.* »

8o *L'importance du voisinage des indigènes* est mise en évidence par les chiffres suivants : Le 13 novembre 1907, l'index endémique est à Sainte-Léonie (département d'Oran) :

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, février 1907.

		Chez les Européens.	Chez les indigènes.
Enfants de	0 à 5 ans.........	0/11	4/7
	6 à 10 —	1/30	7/7
	11 à 15 —	0/6	2/2
		1/47	13/16

Dans ce village, le réservoir de virus est donc presque uniquement formé d'indigènes.

9° *Danger colporté par les émigrants kabyles.* — Nous avons signalé déjà

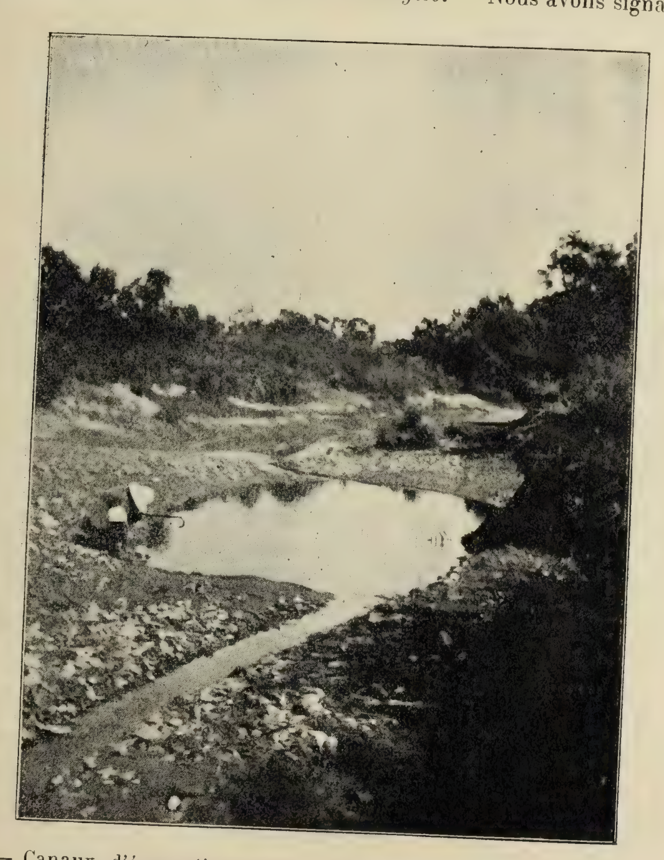


Fig. 10. — Canaux d'évacuation de mares permanentes dans un bras mort de rivière (la Seybouse à Mondovi).

dans nos Rapports précédents que les bandes kabyles et marocaines qui descendent de leurs montagnes pour se louer pour les moissons et les vendanges s'infectent dans les plaines basses où la récolte mûrit tôt, puis, gagnant les plateaux élevés, où la moisson est tardive, y portent un virus d'autant plus dangereux qu'il n'est pas combattu par la quinine. A quinze jours de distance le passage de ces auxiliaires pourtant indispensables des travaux agricoles est marqué par l'éclosion de cas de fièvre dans les fermes

qui les emploient. Ces mêmes observations que nous avions faites dans les trois départements ont été faites indépendamment de nous par deux médecins de colonisation : le Dr Domergue, dont le poste est Michelet (Kabylie du Djurdjura), et le Dr Meinard, de Port-Gueydon (Kabylie).

III. — SUJETS EXPOSÉS

Paludisme des hauteurs. — Au sujet de l'épidémie de paludisme des hauteurs qui a sévi en 1904 et qui a frappé l'imagination des populations, nous ajoutons à l'hypothèse émise dans notre précédent Rapport [1] cette réflexion que les habitants des hauteurs étant d'ordinaire peu frappés par le paludisme, lorsqu'un concours de circonstances spéciales fait éclater une épidémie parmi eux, leur maladie prend une allure plus dramatique, car ils ne lui opposent pas l'immunité relative que possèdent les habitants des plaines. Plusieurs médecins ont signalé que les habitants des hauteurs ont *davantage* souffert du paludisme en 1904 que ceux des plaines. Ces montagnards ont joué le rôle de sujets sains venant de pays salubres ; on sait que, de même, les Français nouveaux débarqués sont bien plus frappés que les colons algériens.

ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

DIFFICULTÉS DE LA PROPHYLAXIE DU PALUDISME

Lorsque dans une localité on trouve une majorité d'ignorants, ou seulement parfois quelques personnalités remuantes opposées à toute entreprise nouvelle, ou bien intéressées à dénigrer les tentatives prophylactiques, il est très difficile d'instituer une campagne, car le succès dépend, dans une grande mesure, de la bonne volonté de tous. Il suffit aussi de quelques personnes bien disposées pour que la force de l'exemple permette des progrès extrêmement sensibles. Nous sommes heureux de constater que chaque année augmente le nombre des villages où les habitants s'intéressent vivement à la prophylaxie antipaludique (voir plus loin).

PROCÉDÉS DE LA PROPHYLAXIE

I. Eloignement du réservoir de virus et des gîtes

Nous n'avons pas rencontré en 1907 de cas où l'éloignement du réservoir de virus ou celui des gîtes aurait pu être réalisé

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, février 1907.

de façon pratique pour un village ou une agglomération importante.

II. Mesures antilarvaires.

1° *Très simples* sont parfois les mesures antilarvaires capables d'assainir un centre de nouvelle création. Exemple : village récent de Liébert, groupe de fermes projeté à Sakrania. (Voir plus loin les notes de MM. Tailhandier et Ripert.) Les Anophé-



Fig. 11. — Drainage efficace d'un sol marécageux par deux sillons tracés à la charrue (à Mondovi).

lines extrêmement nombreux qui assiégeaient la maison forestière du lac de Mouzaïa ont presque disparu en 1907, à la suite de mesures fort simples prises pour l'évacuation des eaux du lac par M. l'inspecteur adjoint de Peyerimhoff (voir plus loin) ;

2° *Nécessité des pétrolages fréquents* à des intervalles de 15 jours, prouvée par la possibilité d'une vie larvaire très courte, même dans le Tell (voir plus haut, observations sur la vie larvaire) ;

3° *Nécessité des mesures antilarvaires précoces*. Elles ont été reconnues nécessaires à Mondovi (plaine de la Seybouse) dès la fin du mois de mars ;

4° Un bon moyen pour étendre le pétrole à la surface de

l'eau des marécages étendus inaccessibles consiste à faire traverser ces marécages par un troupeau de bœufs, après la projection de pétrole;

5° On a réussi à empêcher la formation des gîtes « trous de sabots » laissés par le passage des troupeaux aux abreuvoirs, des fontaines, des oueds, et des gués, en creusant des fossés remplis de grosses pierres recouvertes de terre. Ce drainage rudimentaire assure la perméabilité constante de la couche superficielle du sol;

6° M. Pellegrin a eu l'idée, suivie de plein succès, de drai-



Fig. 12. — Canal, gîte à Anophélines, au point où cesse le faucardement (à Mondovi).

ner les prairies submergées en y traçant à la charrue quelques profonds sillons bien dirigés;

7° Nous constatons encore en 1907 que des ouvriers improvisés sont inaptes aux mesures antilarvaires. Ils doivent être éduqués par un moniteur au courant de la technique, qui se sert du FILET A LARVES avant et après les pétrolages. L'emploi de cet engin est d'une importance capitale. Le moniteur doit aussi observer des gîtes témoins non attaqués, de façon à se rendre compte lui-même de l'efficacité de son travail.

II bis. Mesures contre les adultes.

Nous avons continué la projection du pétrole, suivie de projection d'eau, dans les coins d'écurie, refuges de nombreux Anophélines.

M. Pellegrin a imaginé de flamber les Anophélines posés sur les plafonds au moyen de coton imbibé d'alcool et fixé au bout d'une perche. M. Pellegrin projette aussi de la poudre de pyrèthre, à l'aide d'un soufflet à soufrer la vigne, dans les recoins où se réfugient les adultes. On emploie en moyenne un gramme de poudre par mètre cube d'air. Les chambres étaient laissées fermées pendant une demi-heure après l'opération. Un laps de temps plus court ne suffit pas pour l'asphyxie des Anophélines. Ce dernier procédé a donné les meilleurs résultats à Mondovi et à Penthièvre.

III. Quininisation.

Le nombre total des personnes quininisées régulièrement, *par des quininisateurs*, est de **2,130**.

Le nombre des personnes quininisées irrégulièrement, non par des quininisateurs, est de **1,690**.

Nous avons presque uniquement employé les dragées de bichlorhydrate de quinine de 20 centigrammes de sel dans 30 centigrammes de sucre, analogues à celles de l'Etat italien. Ce mode d'administration est universellement apprécié, et les dragées sont parfois réclamées avec insistance par les personnes traitées (villages de Tourville, Sainte-Léonie, etc.). Les dragées suffisent à toutes les éventualités, car si l'on a affaire aux cas où leur ingestion est impossible (enfants), en les jetant dans un peu d'eau, on obtient une solution immédiate.

Pour les jeunes enfants la poudre de quinine enrobée dans de l'huile a parfois été employée (Attatba).

Dans les champs de démonstration et dans les localités à réservoir de virus abondant, la distribution de la quinine a été confiée à des Européens : nous signalons les services rendus par M. Loup, ancien brigadier de gendarmerie, la population indigène étant très sensible au prestige des militaires.

Dans le domaine de l'Habra il est procédé à un essai inté-

ressant de quininisation journalière par des sœurs de charité.

En 1907 furent employés neuf quininisateurs européens (4 hommes, 5 femmes) du concours desquels nous n'avons qu'à nous féliciter.

Les institutrices et les instituteurs ont rendu de réels services à la quininisation partout où il a été fait appel à eux.

Nous nous sommes adressés aussi, en pays indigène, aux marabouts influents pour leur demander de conseiller à leur coreligionnaires l'usage de la quinine : Marabout ben Takouk

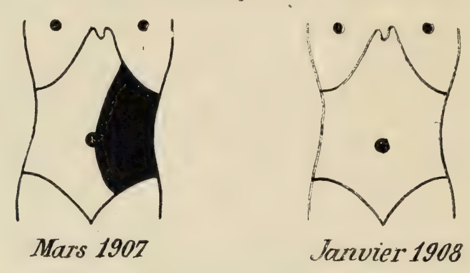


Fig. 13. — Résultat exceptionnel de la cure quinique sur le volume de la rate d'une femme indigène des Beni-Messous (Dt d'Alger).

à Aïn-Tedelès, vu par le Dr Descrimes ; Marabout si Mahmed, au Haouch-Touta, commune de Birtouta ; Marabout Belkaçem à Kaala, commune de Birtouta ; Marabout Ahmed ben Salem à la fraction des Beni-Messous à Chéraga.

La quininisation a été journalière (20 centigrammes *pro die*) partout où ce fut possible : Tourville, domaine de l'Habra, Attatba, Chéragas, Penthièvre, Mondovi.

Dans la Mitidja, et Sainte-Léonie, de petites provisions de quinine (20 à 30 dragées = 4 à 6 grammes) furent distribuées à intervalles de plusieurs semaines aux chefs de famille indigènes.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats par la quininisation journalière que par la quininisation à intervalles éloignés. (Voir plus loin le tableau de la quininisation dans la Mitidja.)

Les docteurs Susini, Descrimes, Bonnafé, Cubry, de Mouzon ont procédé eux-mêmes à la quininisation des localités où ils dirigeaient la campagne antipaludique.

Le tableau qui suit montre que chez les *traités* par la cure quotidienne (sujets examinés avant et après la campagne) le nombre de rates améliorées est bien plus grand que celui des

rates aggravées, et que l'inverse s'est produit quand la quinisation a été irrégulière et surtout quand elle a été nulle. Le rapport $\frac{\text{amélioration}}{\text{aggravation}}$ = chez les traités régulièrement $\frac{115}{34}$, chez les traités irrégulièrement $\frac{36}{52}$, chez les non traités $\frac{6}{16}$.

Tableau des résultats de la quininisation sur le volume des rates.

	Amélioration.		Pas de modification.		Aggravation.		
	Redevenues normales.	Diminuées.	Restées de même grosseur.	Restées normales	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.	
Quininisation régulière :							
Attatba	11	4	38	17	0	7	
Mondovi	17	13	191	8	1	4	
Penthièvre	7	4	28	6	3	1	
Tourville	6	1	55	1	1	1	
Sainte-Léonie	9	2	35	8	2	4	Amélioration : 71 + 44 = 115
Chiffa (particulier)	3	4	17	4	1	1	Aggravation : 12 + 22 = 34
Beni-Messous	11	11	27	6	0	3	
Habra	7	5	47	3	4	1	
	71	**44**	**438**	**53**	**12**	**22**	
Quininisation irrégulière :							
Montebello	3	5	44	10	3	8	
Oued-Alleug	3	0	8	3	0	1	
Brazza	1	0	7	1	0	1	
Ain-Tedeles	2	2	21	12	4	12	Amélioration : 22 + 14 = 36
Pont-de-l'Isser	2	2	21	8	4	3	Aggravation : 19 + 33 = 52
Marengo	3	1	16	4	5	3	
Liébert	3	2	15	2	1	1	
El-Milia	5	2	45	8	2	4	
	22	**14**	**177**	**48**	**19**	**33**	
Pas de quininisation ;							
Kléber		0	47	5	4		
Barral	1	0	10	4	1	2	Amélioration : 4 + 2 = 6
Ain-Tedeles (témoin)	1	0	15	2	0	2	Aggravation : 8 + 8 = 16
Planète	0	0	6	2	2	2	
Chiffa (village)	0	2	16	8	1	2	
	4	**2**	**94**	**21**	**8**	**8**	

Voir plus loin pour le détail de la quininisation dans la plaine de la Mitidja.

IV. Défense mécanique.

L'application des grillages aux portes, fenêtres et che-

minées fait des progrès dans l'opinion publique. Leur emploi se généralise peu à peu.

La moustiquaire de lit constitue une mesure de préservation *parfaite* pour toutes les personnes suffisamment soigneuses.

MODES D'ÉVALUATION DES RÉSULTATS DE LA PROPHYLAXIE

Cette évaluation se fait grâce à l'observation de TÉMOINS. Témoins pour les mesures antilarvaires : comparaison du nombre des larves et des adultes dans les localités défendues et dans les non-défendues : Gambetta témoin de Mondovi. Ferme M. témoin de Montebello.

Témoins pour la quininisation : comparaison des pourcentages de printemps et d'automne, d'une part chez les traités, d'autre part chez les non-traités.

Pour apporter la plus grande rigueur dans l'évaluation des résultats de la quininisation, nous nous contentons de mettre en balance les améliorations et les aggravations des rates hypertrophiées, sans tenir compte des états stationnaires, bien que *l'absence d'une augmentation* dans le volume de la rate constitue un progrès chez des fiévreux.

PARTIE SPÉCIALE

I. La campagne antipaludique en Algérie se poursuit en premier lieu dans des « CHAMPS DE DÉMONSTRATION » destinés à montrer au public, par des leçons de choses, comment s'appliquent les principes complexes de la prophylaxie.

Des champs de démonstration ont été créés dans les trois départements : dans le département d'Alger, à Montebello ; dans le département d'Oran à Tourville et à Sainte-Léonie ; dans le département de Constantine à Mondovi et à Penthièvre. Les mesures antilarvaires, la quininisation et, à Montebello, la défense mécanique sont établies et surveillées aussi bien que possible.

Ces champs de démonstration remplissent bien leur but, en fournissant à leurs surveillants le sens et l'habitude d'une bonne technique antipaludique, en même temps qu'ils prouvent au public l'efficacité des mesures prises.

Cette preuve étant faite, il fallait généraliser la lutte antipaludique en Algérie.

Une mesure d'ordre général consiste dans la diffusion de bonne quinine, à bon marché, sous la forme de ces dragées qu'une expérience de plusieurs années, se surajoutant à l'expérience de l'Etat italien, a prouvées tout à fait excellentes. Des dispositions propres à assurer cette diffusion de la quinine sont à l'étude en ce moment.

II. — POUR LA GÉNÉRALISATION DE LA LUTTE ANTIPALUDIQUE, ON A CHOISI, EN PREMIER LIEU, LA PLAINE DE LA MITIDJA. C'est dans cette plaine, riche mais encore insalubre par places, qu'en partant de l'ouest pour aller vers l'est, avec le concours de toutes les administrations et, en premier lieu, des Ponts et Chaussées, toutes les questions locales relatives au paludisme sont successivement étudiées et résolues dans la mesure du possible.

Le but poursuivi est l'assainissement du sol par les grandes mesures antilarvaires qui détruisent les gîtes à Anophélines partout où les intérêts agricoles et économiques en général viennent à l'appui des intérêts de la salubrité. Mais le but principal que l'on vise est la disparition du réservoir de virus, la guérison par la quinine de tous les anciens fiévreux. Pour aller au plus pressé, on commence par organiser cette quininisation

là où l'index endémique (grosses rates paludéennes) dépasse 15 0/0. Et pour favoriser cette entreprise d'extinction des foyers de paludisme, les petites mesures antilarvaires (extermination locale et temporaire des Moustiques) sont établies comme mesures accessoires dans les localités les plus infectées. Elles ont pour but d'empêcher les réinfections pour un temps, jusqu'à ce que la quininisation ait suffisamment réduit le réservoir de virus. Enfin les diverses administrations, dans ces localités infectées, donnent à leurs fonctionnaires et agents des grillages de toile métallique, ce qu'on peut appeler une protection de luxe, qui ajoute en même temps au confort. Chaque année, dans la Mitidja, s'amorcent de nouvelles tentatives de défenses antipaludiques auxquelles sont invités à s'intéresser et à prendre part les médecins et les principaux colons, qui doivent l'exemple. On peut dire qu'après les premiers tâtonnements, l'élan est donné.

III. — DANS LE RESTE DE L'ALGÉRIE, ET PRINCIPALEMENT SUR LES LIGNES DE CHEMIN DE FER, DES ENQUÊTES SONT FAITES PARTOUT OU LES AUTORITÉS LOCALES OU DES PARTICULIERS SIGNALENT UN PALUDISME VIOLENT. Dans ce cas, la généralisation de la lutte antipaludique est confiée aux médecins de colonisation dont chaque année de nouveaux sont associés à la campagne. Chacun d'eux est appelé à défendre un ou plusieurs centres de sa circonscription. Sur les chemins de fer, la création de techniciens spécialistes est poursuivie. Une telle généralisation doit être prudente, car la méthode est encore peu connue du public. Elle doit être appliquée, pour être efficace, avec soin et minutie, dans un milieu qui la comprenne et la facilite [1].

1. Nous devons déclarer que, grâce à l'impulsion donnée par M. le Gouverneur général Jonnart, les différentes administrations nous prêtent chaque année un concours plus efficace. Nous nous plaisons à remercier la Commission du paludisme, en particulier son président, M. Boulogne, et son actif secrétaire, M. Maris, de leur collaboration très précieuse.

SOMMAIRE

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION

	TÉMOINS
Montebello	Ferme M. Camp Halloula.
Tourville Sainte-Léonie	Kléber et fermes voisines.
Mondovi Penthièvre	Barral et fermes voisines.

Extension de l'antipaludisme.

II. — MITIDJA

	COMMUNES ET ÉTAT — LOCALITÉS défendues.	COMMUNES ET ÉTAT — LOCALITÉS non défendues.	Fonctionnaires défendus par les grillages.	Particuliers appliquant la prophylaxie.
1re section.	Montebello. Marengo. Attatba.	Bourkika. Ameur-el-Aïn. El Affroun. Mouzaïaville. Région de l'O. Djer Chiffa.	Montebello. El Affroun. Attatba. Camp Halloula	Chiffa. Tiktaka.
2e section.	Blida (douars). Boufarik (douars). Birtouta (douars). Oued-el-Alleug (douars et village). Coléa (douars).		Birtouta. Oued-el-Alleug Berbessa.	
Sahel.	Chéragas (Beni Messous).	Zouaoua.		
3e section. (Région témoin).		Arba. Eucalyptus. Rovigo. Sidi-Moussa. Baraki. Gué de Constantine. Boufarik. Baba-Ali. Chebli. Bouïnan. Souma.		

III. — AUTRES LOCALITÉS FIÉVREUSES.

COMMUNES ET ÉTAT		Fonctionnaires défendus par les grillages.	Particuliers appliquant la prophylaxie.
LOCALITÉS défendues.	LOCALITÉS non défendues.		
Brazza (Dr Susini). Adélia (Dr Lécuyé) Liébert (Drs Aucaigne et de Mouzon)........... Liébert (M. Ripert). Bourlier-Burdeau. Taine........... Victor-Hugo..... Montagnac (Dr Cubry)........... Pont de l'Isser (Dr Leroy)........ Aïn-Tedeles douars (Dr Descrimes). El milia (Dr Bonafé).......... Sakrania (M. Tailhandier)....... Gambetta........	Saint-André de Mers-el-Kebir. Noisy-les-Bains. Béni-Ounif de Figuig. Roum-el-Souk. Oum-Teboul. Mechta-Tonga. Lac Fetzara. Batna. Lambèse. Timgad. Sidi-Mançar. Aguedel-el-Beylik. Tamalous. Oued-Athménia.	Département Alger, 28 maisons........ Département Constantine, 15 maisons.. Département Oran, 5 maisons......... Gardes forestiers......... Maison forestière du lac de Mouzaïa.....	Domaine de l'Habra...... Chemins de fer..........

Le détail de cette Partie spéciale devant paraître dans une publication tirée à part, nous nous contenterons de donner ici les résultats obtenus dans les *Champs de démonstration* et dans la *Plaine de la Mitidja.*

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION

I. — Village de Montebello.

4e campagne. — 3 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation, grillages.

Résultats. — I. Dans les 7 visites faites d'avril à novembre, on n'a jamais constaté la présence de larves d'Anophélines dans la zone pétrolée.

Témoins : Constamment, aux mêmes visites, on trouva de très nombreuses larves d'Anophélines dans les canaux situés hors de la zone pétrolée.

II. En juin et en octobre, quelques rares Anophélines adultes ont été capturés dans les « refuges » des adultes (recoins sombres des écuries). Les habitants ont déclaré n'avoir jamais été tourmentés par ces Insectes.

Témoins: Pendant tout l'été, jusqu'en fin octobre, la ferme M., située à 2 kilomètres de la périphérie de la zone pétrolée, a servi de refuge à des essaims innombrables d'*Anopheles maculipennis*.

III. Sur 65 Européens indemnes et sensibles qui ont passé l'été 1907 à Montebello, 0 cas de première invasion. (Sur ces 65 personnes, 4 nouveau-nés.)

Sur 13 Européens anciens infectés (dont 3 provenant en 1907 d'autres localités), 5 ont eu des rechutes (dont deux graves, nécessitant les soins de M. le Dr Giudicelli, médecin de colonisation, résidant à Marengo).

Témoins : Dans les environs immédiats de la zone protégée : ferme G., à 3 kilomètres au sud-ouest; ferme M., à 3 k. 500 à l'est (défense mécanique incomplète, pas de mesures antilarvaires), sur 7 Européens jusque-là indemnes, 4 cas de première invasion.

Au camp Halloula (des Ponts et Chaussées), établi à 5 kilomètres du village de Montebello, au moins 4 cas de première invasion chez des Européens : un de ces cas fut grave (parasite de la tierce maligne dans le sang). Outre ces cas observés sur place, 7 ouvriers durent être hospitalisés à l'hôpital de Coléa, pour fièvre.

IV. Les résultats de guérison obtenus par la quininisation sur l'infection invétérée des indigènes ne sont pas aussi bons que les résultats de la prévention chez les Européens. Ils sont indiqués par le tableau suivant, montrant les modifications constatées dans le volume des rates du printemps à l'automne.

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
3	5	44	10	3	8

II. — Tourville.

2e campagne, avec la collaboration du Dr Bories. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Durant les 4 visites faites d'avril à novembre, on ne put jamais constater la présence de larves dans la zone pétrolée.

Témoins : A quelques mètres en amont de la limite des faucardements et pétrolages, les larves pullulèrent tout l'été.

II. Quelques adultes furent capturés au milieu de l'été dans les habitations de la partie supérieure du village : c'est à la suite de cette constatation que les faucardements furent poussés 200 mètres plus loin qu'en 1906.

Témoins : Anophélines adultes extrêmement nombreux tout l'été à la ferme C. (à 3 kilomètres du village) et dans l'habitation du barragiste.

III. Sur une population de 1,000 habitants (15 nouveau-nés) un seul cas de paludisme de première invasion (forme bénigne rapidement guérie), chez un enfant nouveau-né habitant près de la voie du chemin de fer qui transporte souvent, ainsi que nous l'avons constaté, des Anophélines venant des plaines fiévreuses de la Macta. Le train, au niveau de l'habitation de ce nouveau-né, ralentit sa marche en passant sur le pont de l'embouchure de l'oued Magoun. Aucun autre cas de première invasion, ainsi qu'il résulte de nos investigations poursuivies de maison en maison, et des renseignements donnés par M. le D[r] Bories, médecin communal d'Arzew.

Témoins : ferme C. (à 3 kilomètres de Tourville) : sur 3 personnes nouvelles venues indemnes (dont un nouveau-né), 2 cas de première invasion, dont l'un suivi de mort (hémoglobinurie).

IV. Les tableaux suivants donnent les variations de volume des rates, du printemps à l'automne, chez les habitants de Tourville et chez les habitants de Kléber, village moins malsain que Tourville, mais le seul de la région (sans compter Sainte-Léonie, défendu cette année) qui puisse servir de « témoin ».

A Tourville, résultats bons : 7 *améliorations contre* 2 *aggravations,* 56 *états stationnaires. A Kléber* (*témoin*) *au contraire,* 2 *améliorations contre* 4 *aggravations,* 52 *états stationnaires.*

	AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
	Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
A Tourville. ..	6	1	55	1	1	1
A Kléber (tém.).	2	»	47	5	4	»

III. — Sainte-Léonie.

1[re] campagne, avec la collaboration du D[r] Bories. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Durant les 4 visites faites d'avril à novembre, on ne put jamais constater la présence de larves dans la zone pétrolée.

Témoins : larves nombreuses en aval et au barrage.

II. Adultes très rares à Sainte-Léonie durant l'été 1907, de l'aveu des habitants : nous ne pûmes jamais en capturer en 1907.

Témoins : Adultes très nombreux à la ferme C. à 3 kilomètres et chez le barragiste (mêmes témoins que pour Tourville).

III. Sur 300 habitants, 0 cas de première invasion.

Témoins : les mêmes que pour Tourville (voir plus haut).

IV. — *Tableau des variations des rates à Sainte-Léonie. Résultats bons : 11 améliorations contre 6 aggravations* (43 *états stationnaires*).

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Rates redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
9	2	35	8	2	4

En automne 1907, l'index est donc de 16/60. En automne 1906, il était de 31/49. Le progrès est manifeste.

IV. — Mondovi.

1[re] campagne, avec la collaboration du D[r] Marbot. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. On ne put jamais constater la présence de larves d'Anophélines âgées de plus de 15 jours dans la zone pétrolée.

Témoins : Grosses larves et nymphes très abondantes en amont et en aval de la zone pétrolée. Comme moyen de contrôle sur place, on a laissé pousser pendant quelques jours les herbes des bords du canal sur une longueur de 200 mètres ; les larves y ont pullulé aussitôt.

II. Pas d'Anophélines adultes *en été* au village. Le 22 octobre (jour d'orage : vent et pluie venant du nord-ouest), irruption d'Anophélines adultes dans les locaux de la gare (voir le plan). Successivement, ces Insectes envahirent les jours suivants les premières maisons du quartier ouest, puis les autres quartiers.

Il est probable que les gîtes (non pétrolés) producteurs de ces Anophélines ont été constitués par la partie du canal située au nord, à 1,800 mètres de la gare. Entre cette limite et la gare s'élèvent trois habitations : les distances respectives comprises entre la limite de la zone pétrolée, chacune de ces habitations et la gare sont de 400, 300, 500, 600 mètres : ces habitations forment autant d'étapes successives qui ont pu permettre aux Anophélines d'envahir peu à peu les maisons de Mondovi.

Témoins : Anophélines adultes extrêmement nombreux pendant *tout l'été* à la cave Guébar (3 kilomètres), ferme Belair (à 900 mètres), à la ferme Langlois (5 kilomètres) et à Barral-village (6 kilomètres).

III. Sur une population européenne de 773 personnes, indigène de 543 personnes (22 nouveau-nés), 3 cas de première invasion en automne (1 adulte, 2 nouveau-nés).

En automne, rechutes nombreuses, coïncidant avec une chaleur anormale.

Témoins : Village de Barral, à 6 kilomètres au sud (3 nouveau-nés); 5 cas de première invasion (1 chez un adulte, 2 chez des enfants, et 2 chez des nouveau-nés).

Ferme Gu. à 3 kilomètres au nord. 4 nouveau-nés, frappés tous 4 d'infection primitive. 1 cas d'hémoglobinurie chez un ancien infecté.

Ferme Ch. de G. à 5 kilomètres environ au nord. 9 nouveau-nés, frappés tous 9 d'infection primitive.

Ferme L. à 5 kilomètres au sud-ouest. 1 nouveau-né présente un cas de première invasion.

Tableau des variations des rates à Mondovi et à Barral (témoin). A Mondovi, résultats bons, 30 améliorations contre 5 aggravations, 199 états stationnaires. A Barral (témoin), au contraire, 1 amélioration contre 3 aggravations, 14 états stationnaires.

	AMÉLIORATION		Pas de MODIFICATION		AGGRAVATION	
	Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
A Mondovi.....	17	13	191	8	1	4
A Barral (tém.).	1	»	10	4	1	2

V. — Penthièvre.

1re campagne, avec la collaboration du Dr Pagès. 2 mesures sont appliqués : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Maximum de l'âge des larves, constaté dans l'intervalle des pétrolages : 20 jours.

Témoins : Grosses larves et nymphes en dehors de la zone pétrolée.

II. Pas d'Anophélines adultes en été. Fin octobre, apparition de ces Insectes dans les habitations du village (les mesures antilarvaires avaient été très restreintes : 2 kilomètres de longueur).

Témoins : Anophélines adultes très nombreux tout l'été à la ferme.

III. Sur 208 Européens (8 nouveau-nés), 2 cas bénins de première invasion (une grande personne et un nouveau-né). L'examen systématique du sang permit seul de faire ce dernier diagnostic chez un nouveau-né qui ne présentait comme symptôme clinique, d'après la mère, que quelques bouffées de chaleur de temps en temps (grosses formes de la tierce bénigne dans le sang).

Témoins : Ferme au N.-E. à 12 kilomètres environ : (gîtes : mares d'un ruisseau voisin) 1 cas au moins sur 2 Européens.

Tableau des variations du volume de la rate chez les habitants (réservoir de virus). Résultats bons : 11 *améliorations contre* 4 *aggravations,* 34 *états stationnaires.*

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
7	4	28	6	3	1

Témoin : Village de Barral. (Voir plus haut.)

II. — PLAINE DE LA MITIDJA

Voir les deux cartes qui suivent.

			Index endémique avant les chaleurs.						Après les chaleurs.						
			ENFANTS				ADULTES		ENFANTS				ADULTES		
			De 0 à 5 ans.	De 6 à 10 ans.	De 11 à 15 ans.	Total de 0 à 15 ans	(De plus de 15 ans.)	TOTAL	De 0 à 5 ans.	De 6 à 10 ans.	De 11 à 15 ans.	Total de 0 à 15 ans	(De plus de 15 ans)	TOTAL	
Quininisés régulièrement tous les jours par un agent quininisateur.	1re section.	Attatba	0/10	9/17	17/20	31/ 47	8/ 30	39/ 77	4/10	6/17	12/20	22/ 47	6/30	28/ 77	Index endémique réduit de 49,6 0/0 à 35,1 0/0
		Chiffa (particulier)	2/ 5	3/ 5	2/10	7/ 20	5/ 10	12/ 30	2/ 5	2/ 5	2/10	6/ 20	4/10	10/ 30	
	Sahel.	Beni-Messous	3/ 6	8/10	10/12	21/ 28	10/ 30	31/ 58	2/ 6	4/10	6/12	12/ 28	8/30	20/ 58	
								82/ 165						58/165	
Quininisés irrégulièrement ou à intervalles éloignés	1re section.	Montebello	2/10	6/ 9	12/24	20/ 43	6/ 30	26/ 73	2/10	7/ 9	13/24	22/ 43	27/30	49/ 73	Index endémique augmentant de 35,03 0/0 à 37,3 0/0
		Marengo	0/ 4	1/ 5	10/22	11/ 31		11/ 31	1/ 4	2/ 5	10/22	13/ 31		13/ 31	
	2e section.	Colea	8/19	13/22	16/28	37/ 69	17/ 51	54/ 120	5/16	13/32	15/28	33/ 76	12/27	45/123	
		Blida	4/17	9/21	8/17	21/ 55	7/ 36	28/ 91	5/21	7/31	3/17	15/ 69	0/13	15/ 82	
		Ouedel-Alleug	2/12	11/14	4/12	17/ 38	2/ 5	19/ 43	0/12	8/13	1/12	9/ 37	1/ 5	10/ 42	
		Birtouta	0/16	5/24	6/17	11/ 57	5/ 45	16/ 102	2/13	7/27	1/13	10/ 53	2/26	12/ 79	
		Boufarik	17/61	32/60	19/60	68/171	39/114	107/ 285	9/31	35/55	15/28	59/	18/57	77/171	
								261/ 745						221/591	
Non quininisés.	1re section.	El-Affroun	3/32	5/44	6/14	14/ 90		14/ 90	5/ 9	16/46	13/47	34/102		34/102	Index endémique augmentant de 18,1 0/0 à 23,9 0/0
		Chiffa (village)	2/ 5	2/ 7	0/ 3	4/ 15	4/ 7	8/ 22	1/ 7	6/ 9	3/ 3	10/ 19	3/10	13/ 29	
	3e section.	Arba	2/32	3/19	0/14	5/ 65	0/ 3	5/ 67	3/28	0/38	1/15	3/ 81		3/ 81	
		Eucalyptus	3/ 6	3/ 8	2/ 3	8/ 17	0/ 2	8/ 19	3/ 7	1/ 6	2/ 5	6/ 18	2/ 5	8/ 23	
		Rovigo	3/20	7/13	4/ 8	14/ 41	0/ 2	14/ 41	5/15	6/14	3/ 7	14/ 36		14/ 36	
		Sidi-Moussa	1/20	3/16	1/ 4	5/ 40	0/ 10	5/ 50	2/14	1/15	1/ 5	4/ 34		4/ 34	
		Baraki	1/19	9/28	7/12	17/ 59	3/ 9	20/ 68	2/18	2/13	6/18	10/ 49	0/11	10/ 60	
		Gué-de-Constantine	0/ 5	5/18	0/ 5	5/ 28	11/ 74	16/ 102	1/ 2	0/15	0/ 7	1/ 24	1/029	11/ 53	
		Boufarik	4/30	6/29	9/27	19/ 78	17/ 85	36/ 163	7/43	12/34	4/21	23/ 98	7/22	30/120	
		Baba-Ali	10/39	17/45	10/25	37/109	4/ 5	41/ 114	4/32	10/35	15/31	29/ 98	8/22	37/120	
		Chebli	2/19	9/35	5/19	6/ 76	7/ 55	23/ 131	2/15	0/18	3/11	5/ 44	6/28	11/ 72	
		Bouinan	0/21	4/17	1/48	7/ 46	2/ 40	9/ 198	0/14	1/ 7	1/ 7	2/ 28	2/32	4/ 60	
	Sahel.	Zouaoua	0/ 3	2/ 5	3/ 5	5/ 13	0/ 10	5/ 23	1/ 3	2/ 5	3/ 5	6/ 13	0/10	6/ 23	
								199/1098						195/813	

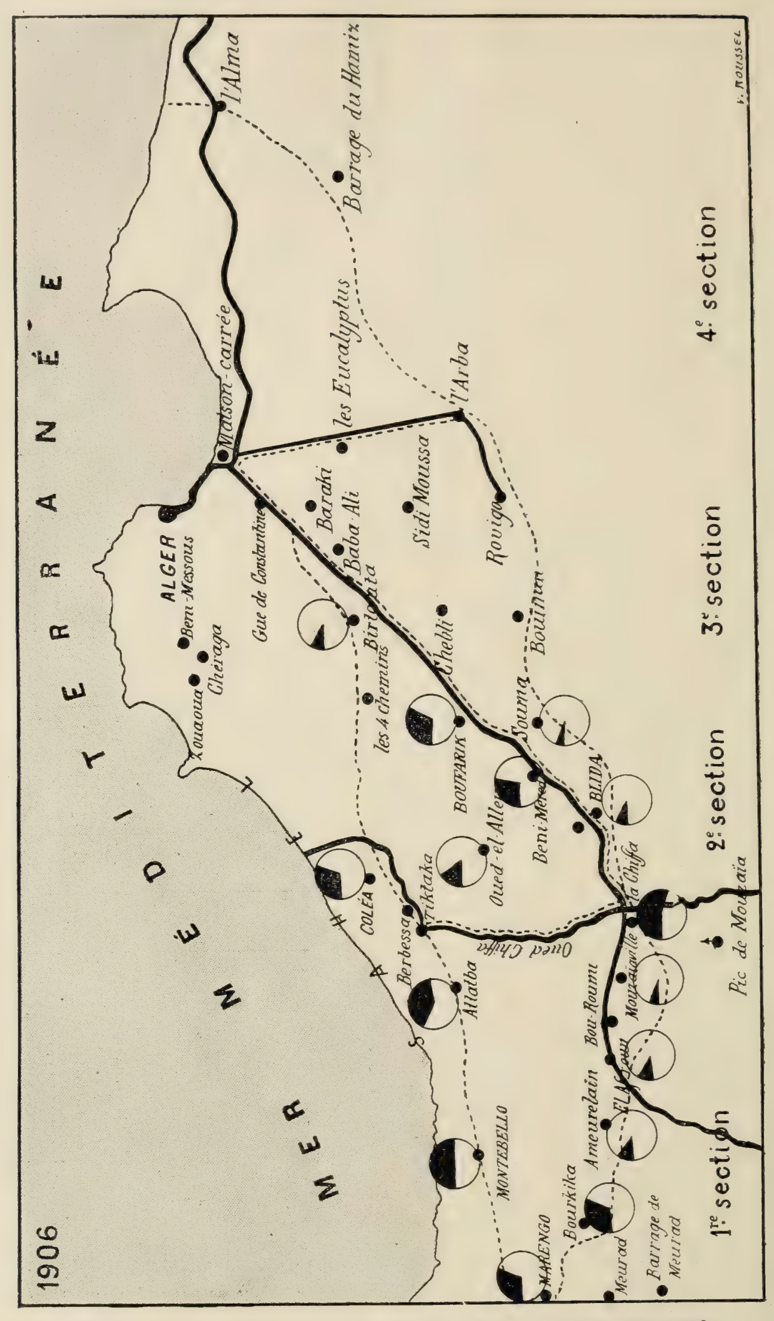


Fig. 16. — Index endémiques de la plaine de Mitidja en automne 1906.

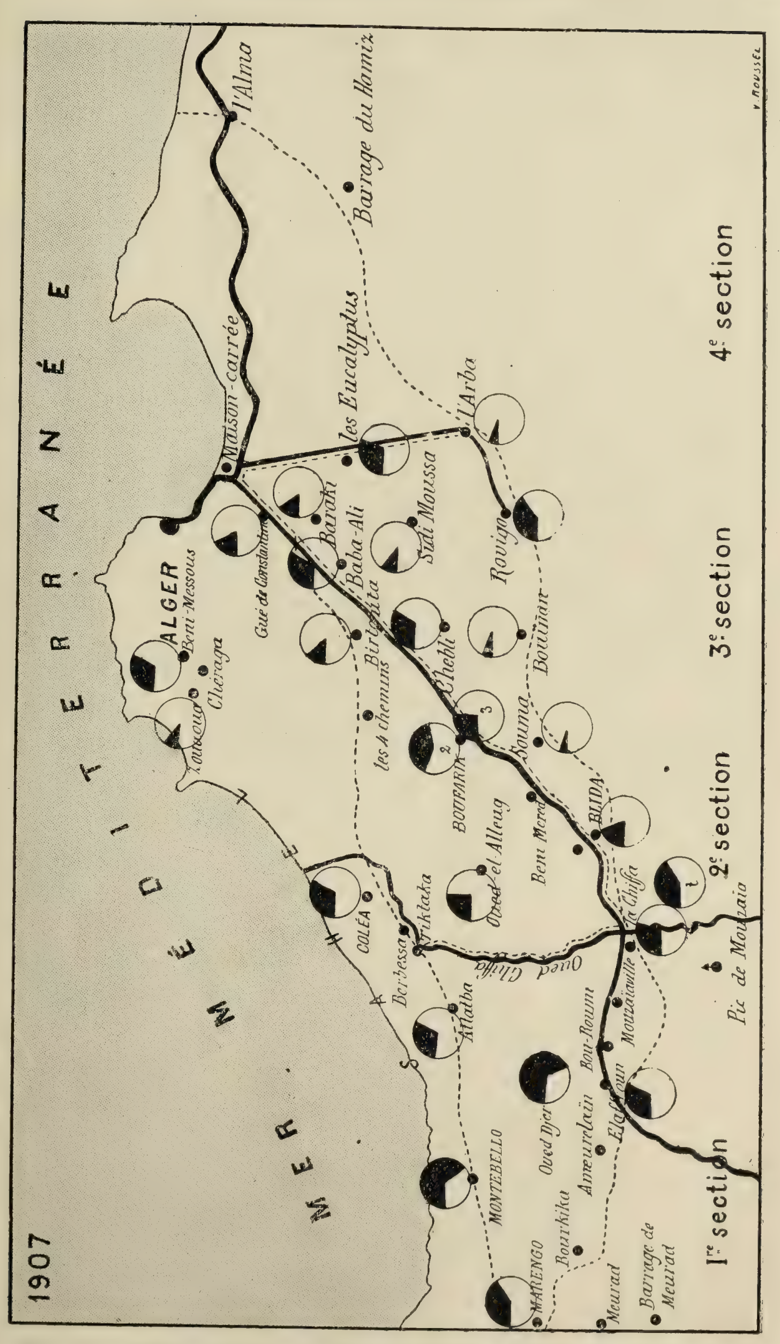


Fig. 17. — Index endémiques de la plaine de la Mitidja en automne 1907.

PROPAGANDE

Comme les années précédentes, on a distribué un grand nombre de *Recommandations* pour se défendre contre le paludisme (illustrées);

De *Conférences;*

De *Petites Affiches* (à signaler celles des chemins de fer de l'État);

De *Planches murales.*

Nous signalerons en particulier l'heureuse propagande faite par les instituteurs (par exemple M. Mattera, directeur d'école à Mondovi) et par l'inspecteur antilarvaire, M. Pellegrin, qui a su convaincre un grand nombre de personnes par ses démonstrations ingénieuses.

Le Gouvernement Général a couvert les frais d'une série de Conférences, que nous avons faites à notre laboratoire, à Alger, à six médecins de colonisation, sur la Technique microscopique de l'étude du paludisme, et sur l'antipaludisme. Nul doute qu'en permettant ainsi à nos confrères de l'intérieur de venir se mettre au courant des techniques nouvelles, l'administration ne rende un grand service au progrès des conceptions scientifiques, et, par suite, de la pratique médicale elle-même.

Sur la façon dont la tyrosinase agit sur la tyrosine racémique.

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET M. ROSENBLATT

Les expériences de Pasteur et, depuis, celles de beaucoup d'autres savants, ont montré que les cellules vivantes peuvent se comporter d'une manière différente avec les deux composants, droit et gauche, d'une substance racémique, par exemple, que le *Penicillum glaucum* consomme beaucoup plus vite le sel ammonical de l'acide tartrique droit que celui de l'acide tartrique gauche.

D'autre part, les faits découverts dans le domaine de la chimie biologique confirment chaque jour davantage la supposition que les cellules vivantes agissent sur la matière à l'aide de réactifs particuliers ou diastases. Il fallait donc s'attendre à trouver une relation entre la structure de ces diastases et celle des composés optiquement actifs qu'elles ont pour objets d'attaquer.

A ce point de vue, E. Fischer a fait la première observation importante[1]. Il a trouvé que les divers glucosides naturels et artificiels du sucre de raisin se laissent partager en deux séries d'après la façon dont ils réagissent avec la maltase et avec l'émulsine, Tous ceux de ces corps qui appartiennent au type de l'α-méthyl-glucoside sont hydrolysés par la maltase et résistent à l'action de l'émulsine. Tous ceux, au contraire, qui sont construits sur le type du β-méthyl-glucoside sont hydrolysés par l'émulsine et restent inattaqués quand on les soumet à l'action de la maltase. Il semble que les deux ferments solubles aient une structure asymétrique différente, en rapport avec la structure asymétrique des glucosides α et β qu'ils sont capables d'hydrolyser.

Des faits analogues mais moins réguliers ont été signalés aussi par E. Fischer, en collaboration avec Bergell et avec Abderhalden[2], dans l'hydrolyse des polypeptides par les diastases protéolytiques.

1. *Zeischr. f. physiol. Chem.*, t. XXVI, p. 60 (1898).
2. FISCHER et BERGELL, *Ber. chem. Ges.*, t. XXXVII, p. 3103 (1904). FISCHER et ABDERHALDEN, *Zeitschr. physiol. Chem.*, t. XLVI, p. 52 (1905).

Il nous a paru intéressant de rechercher dans les réactions oxydasiques s'il existait également une relation entre l'activité du ferment soluble et la structure asymétrique de la substance soumise à la réaction.

Nous avons utilisé pour cela la tyrosine racémique ou *dl*-tyrosine, préparée suivant la méthode de Erlenmeyer jun. et Halsey[1] améliorée par E. Fischer[2], en réduisant l'acide p-oxy-α-benzoïlaminocinnamique par l'amalgame de sodium, puis en saponifiant la *dl*-benzoïltyrosine obtenue avec de l'acide chlorydrique. Sur cette tyrosine de synthèse nous avons fait agir la tyrosinase, principalement sous forme de macération glycérinée de *Russula Queletii* Fr.

L'expérience montre d'abord que la tyrosine racémique est complètement transformée en mélanine par la tyrosinase[3].

On a dissout $0^{gr},100$ de *dl*-tyrosine dans 50 cent. cub. d'eau, ajouté 5 cent. cub. de macération diastasique et 5 gouttes de $CaCl^2$ au dixième. Après 24 heures de contact, pendant lesquelles l'oxydation a été favorisée par le passage d'un courant d'air, on a évaporé le liquide à consistance de sirop, ajouté plusieurs volumes d'alcool et laissé déposer. La mélanine recueillie à la centrifuge et mise à bouillir, à plusieurs reprises, avec de l'eau[4] a donné, après filtration, un liquide presque incolore, renfermant à des traces près, la tyrosine non attaquée. On a ramené ce liquide au volume de 40 cent. cubes, puis on l'a additionné de tyrosinase (4 cent. cubes) et traité exactement comme la solution primitive. Cette fois la transformation a été complète : le liquide d'épuisement du précipité mélanique n'a donné par évaporation aucun cristal de tyrosine[5] ; il n'a fourni, d'autre part, aucune réaction colorée ni avec la tyrosinase, ni avec le réactif de Millon.

1. *Annal. d. Chemie*, t. CCCVII, p. 138 (1899).
2. *Bericht. Chem. Gesellsch.*, t. XXXII, p. 3638 (1900).
3. Dans un mémoire de la *Zeitschr. f. physiol. Chemie* qui vient de paraître (t. LIV, p. 337, 1908), Abderhalden et Guggenheim signalent que « la *d*-tyrosine, non encore observée avec certitude dans la nature, est attaquée aussi par la tyrosinase, cependant beaucoup plus tard que la *l*-tyrosine. Il est difficile de décider, ajoutent-ils, si la *d*-tyrosine employée était tout à fait pure et ne contenait véritablement pas de *l*-tyrosine. »
4. Pour éviter qu'une partie de la mélanine passe en solution, on ajoute à l'eau distillée un peu de chlorure de calcium, p. ex. un demi-millième.
5. Mais seulement un faible résidu sirupeux formé des substances, insolubles dans l'alcool, introduites par la macération glycérinée.

Au cours de cette transformation, il n'y a pas de séparation de la tyrosine droite d'avec la tyrosine gauche. L'oxydation diastasique porte, du commencement à la fin, avec la même intensité, sur les deux antipodes optiques.

Nous l'avons constaté en traitant la tyrosine racémique par une quantité de tyrosinase insuffisante pour tout détruire : la partie échappée à l'oxydation était encore racémique.

L'expérience a été faite avec trois grammes de *dl*-tyrosine. On a dissous la substance dans un litre et demi d'eau bouillante, laissé refroidir vers 30 degrés et ajouté 160 cent. cubes de macération glycérinée de Russule. Cette macération avait été préalablement additionnée de 10 0/0 de chlorure de calcium au dixième et filtrée. D'après nos expériences préliminaires, le tiers environ de la tyrosine devait rester inattaqué. On a mis le mélange dans un bain maintenu à +30 degrés et l'on a fait passer un courant d'air pendant 24 heures. L'oxydation étant alors terminée, on a concentré dans le vide, à consistance de sirop clair, ajouté 400 cent. cubes d'alcool à 96 0/0 et abandonné à la cristallisation pendant une quinzaine d'heures, en agitant de temps en temps.

Le dépôt mixte de mélanine et de tyrosine a été recueilli par centrifugation, lavé à l'alcool à 80 0/0 et traité, à plusieurs reprises, par l'eau bouillante renfermant quelques gouttes de solution de chlorure de calcium. L'épuisement a été poursuivi jusqu'à ce qu'une petite partie du liquide filtré ne donnât plus aucune réaction colorée avec la tyrosinase. On a eu, en tout, près de 2 litres de liquide. Celui-ci a été amené dans le vide à 50 cent. cubes environ que l'on a mélangé d'un volume d'alcool. Après quelques heures, on a recueilli à la trompe la tyrosine tout à fait blanche qui s'était séparée et, après l'avoir lavée avec de l'alcool à 20 0/0, on l'a séchée et pesée. Il y en avait $0^{gr},944$.

L'eau-mère alcoolique avec le liquide de lavage ont été concentrés à nouveau dans le vide, à consistance d'extrait pâteux. On a ajouté de l'alcool à 30 0/0, afin de dissoudre le chlorure de calcium et d'autres impuretés, puis on a filtré et lavé comme ci-dessus le dépôt de tyrosine. On a recueilli ainsi encore $0^{gr},132$ de cristaux à peine colorés.

Chacune des deux fractions de tyrosine régénérée a été dis-

soute alors dans l'acide chlorhydrique normal, en quantité suffisante pour faire 25 c. c. On a ajouté un peu de charbon de sucre, filtré et examiné au polarimètre, dans un tube de $0^{m},20$ de longueur. Le pouvoir rotatoire a été rigoureusement nul avec chacune des fractions.

On pourrait supposer que l'oxydation simultanée des deux antipodes optiques de la tyrosine est due à la présence, dans l'extrait glycériné de Russule, de deux tyrosinases énanthiomorphes, en quantités égales. Une telle coïncidence quantitative serait curieuse. Mais il n'en est rien ; il n'y a, en réalité, qu'une seule espèce de tyrosinase.

On peut le démontrer en faisant agir comparativement un même volume du liquide diastasique, d'une part, sur un excès de tyrosine gauche naturelle et, d'autre part, sur un excès de tyrosine racémique; puis, quand l'oxydation est terminée, en pesant les mélanines précipitées.

S'il y avait deux sortes d'oxydases, on devrait obtenir, chacune agissant pour son compte, deux fois plus de mélanine avec la tyrosine racémique qu'avec la tyrosine gauche. Or, on en obtient, au degré près d'approximation, le même poids dans un cas et dans l'autre.

Nous avons traité parallèlement et, cela, en suivant en tous points la technique exposée plus haut, 1 gramme de *l*-tyrosine, obtenue par digestion trypsique de la fibrine et 1 gramme de *dl*-tyrosine de synthèse. Pour chaque oxydation. on a employé 50 c. c. de macération diastasique, préalablement additionnés de 5 c. c. de $CaCl^2$ au dixième et filtrés. La mélanine, recueillie après épuisement par l'eau et séchée à $+ 110^{o}$, pesait :

avec la *l*-tyrosine :	$0^{gr},282$
— *dl*-tyrosine :	$0^{gr},314$

Dans une autre expérience comparative, avec des quantités un peu différentes de subtances, on a obtenu en mélanine :

avec la *l*-tyrosine :	$0^{gr},203$
— *dl*-tyrosine :	$0^{gr},191$

Il n'y a donc,dans la Russule, qu'une seule espèce de tyrosinase, agissant aussi bien sur la tyrosine droite que sur la tyrosine gauche.

Ce résultat pouvait d'ailleurs être prévu, d'après la façon dont le ferment soluble se comporte vis-à-vis de divers com-

posés voisins de la tyrosine [1]. Le ferment oxyde tous ceux de ces composés qui renferment un oxhydrile phénolique, sans que la nature ou même l'absence de la chaîne latérale intervienne dans le phénomène, sinon d'une manière accessoire. Ce n'est donc pas une question relativement minime de symétrie dans la chaîne latérale qui pouvait rendre la tyrosine attaquable ou non par le ferment soluble. Il y a, dans l'action de la tyrosinase sur la tyrosine, non pas une relation stéréochimique, mais une relation fonctionnelle.

Cette conclusion ne saurait être opposée à celle que E. Fischer a tirée logiquement de ses recherches sur l'hydrolyse diastasique des glucosides et des polypeptides : elle se rapporte, en effet, à un type de réactions tout à fait différent.

D'un autre côté, il ne faudrait pas croire non plus que la différence des réactions diastasiques entre seule en ligne de compte. Les glucosides dérivés du nitrile phénylglycolique droit sont hydrolysés par l'émulsine des amandes aussi bien que les glucosides dérivés du nitrile phénylglycolique gauche. A moins d'admettre la production de deux diastases énanthiomorphes par les amandes, on a là un exemple de réaction hydrolysante où, comme dans le cas de la tyrosinase et de la tyrosine, la relation entre le ferment soluble et les subtances attaquées est d'ordre fonctionnel plutôt que stéréochimique.

La spécificité des diastases reconnaît des degrés et dépend, sans doute, de causes très différentes.

1. GAB. BERTRAND, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLV, 1352 (1907).
Voir aussi: R. CHODAT, *Arch. Sc. physiq. nat.*, t. XXIV, p. 172 (1907), et ABDERHALDEN et GUGGENHEIM, *Zeitschr. physiol. Chem.*, t. LIV, p. 331 (1908).

Des leucocidines et hémolysines chez les anaérobies

PAR PHILIPPE EISENBERG (DE CRACOVIE)

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans le processus de l'infection, dans cette lutte qui s'engage entre le microbe infectant et l'organisme à infecter, ce ne sont pas seulement les moyens de défense de ce dernier qui méritent notre attention, mais aussi et au même degré le microbe avec tout l'ensemble de ses aptitudes pathogènes, qui constitue ce que nous appelons sa virulence. Les recherches expérimentales sur le mécanisme et les variations de la virulence ainsi que diverses hypothèses émises sur ce point (surtout celle de Kruse et Bail) prouvent que c'est là un problème des plus importants dans la pathogénie des infections. Étant donné le rôle prédominant que joue la phagocytose dans la défense de l'organisme infecté, on pouvait s'attendre à ce que fût dirigée, contre elle en premier lieu, l'action nocive du microbe, qui s'établit et se multiplie dans l'organisme.

Déjà, dans son étude magistrale sur la maladie des Daphnies, où il a signalé pour la première fois l'importance de la phagocytose dans le processus de l'infection et de l'immunité, Metchnikoff annonce un fait de cet ordre. Dans le cas d'infection mortelle, il voit des leucocytes au voisinage des blastomycètes se dissoudre et disparaître, ce qu'il attribue à une sécrétion nocive des blastomycètes pour les leucocytes; sécrétions que nous appelons aujourd'hui leucocidine. Ensuite, beaucoup d'auteurs ont décrit des altérations morphologiques des leucocytes au cours des diverses maladies infectieuses, soit spontanées, soit expérimentales, altérations probablement dues à l'action de l'agent infectieux. Il serait trop long de les résumer ici, on en trouvera une analyse assez complète dans le travail de Helly.

La bactériologie moderne tendant vers une analyse expérimentale de la pathogénie des infections, on a essayé de mettre en évidence *in vitro* l'action nocive exercée par les microbes sur les leucocytes, et c'est à ces tentatives qu'il nous faudra

consacrer quelques remarques. En se servant du procédé d'immersion imaginé par Ranvier, Maurel s'est occupé de la fonction leucocyticide de microbes, tels que la bactéridie charbonneuse, le streptocoque, le staphylocoque, le bacille de Clado, le bacille typhique et celui de la tuberculose, et à laquelle il attribue un grand rôle dans l'issue mortelle de ces infections. Dans une publication récente, il démontre que les leucocytes, après avoir englobé des bacilles tuberculeux, subissent une dégénération[1] qui n'est pas causée par l'englobement d'une culture morte ou atténuée et regarde les leucocytes humains comme réactif de la virulence de ce bacille. Le même fait a été confirmé en ce dernier temps par Calmette, d'après lequel le leucocyte est tué par les poisons tuberculeux que sécrètent ses hôtes (p. 497). Parmi les poisons leucocytaires d'origine bactérienne, c'est celui du staphylocoque qui, sous le nom de leucocidine a été le plus étudié par divers auteurs; il suffira d'énumérer les noms de Van de Velde, Denys et Van de Velde, Borissow, Marwedel, Bail et surtout le travail très documenté de Neisser et Wechsberg. Ces travaux ont établi les altérations morphologiques produites par la leucocidine, son action *in vitro* sur les leucocytes, les conditions de reproduction dans l'animal infecté aussi bien que dans les cultures et enfin la possibilité d'obtenir par immunisation une antileucocidine. Des modifications analogues ont été ensuite observées chez les cobayes dans l'infection pyorganique par Metchnikoff et étudiées d'une façon plus détaillée par Gheorghewsky. Enfin, faut-il citer les recherches de Kiener et Duclert sur le *M. tetragenus* et celles de Helly, pour la plupart morphologiques, sur l'action leucocidique des staphylocoques, streptocoques, bactéridies charbonneuses, du colibacille, des bacilles typhique, diphtérique, pneumonique et tuberculeux, en cultures entières ou filtrées. L'observation unique, que je pus trouver dans la littérature sur l'action leucocidique d'un anaérobie a été faite par Kamen qui, en se servant de la méthode bioscopique de Neisser et Wechsberg, l'a démontrée dans les cultures filtrées du *B. perfringens* (*B. phlegmones emphysematosæ Fraenkel-Welch*).

C'est au cours des recherches sur la phagocytose *in vitro* du bacille du charbon symptomatique et du vibrion septique que

1. Fait constaté antérieurement par Borrel.

j'ai pour la première fois remarqué l'action leucocidique de ces microbes. Dans l'étude de cette action, je me suis servi du procédé imaginé par Wright et appliqué par lui et divers autres auteurs aux recherches sur les opsonines. On se procure des globules blancs humains en laissant couler du sang d'une petite piqûre d'un doigt dans l'eau citratée (solution à 1,5 0/0 de citrate de soude dans l'eau physiologique), en raison de

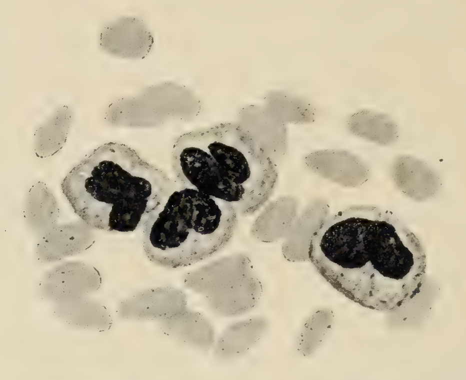


Fig. 1. — Dégénération des leucocytes polynucléaires (sang humain).

20-30 gouttes de sang pour 10 c. c. d'eau citratée. Après avoir bien mélangé, on centrifuge pendant 10-15 minutes à la centrifuge électrique (vitesse moyenne), on décante le liquide surnageant les globules, on le remplace par la même quantité d'eau physiologique, puis, après avoir mélangé, on centrifuge de nouveau pendant 10 minutes. Après quoi on décante soigneusement le liquide surnageant (en prenant garde de ne pas

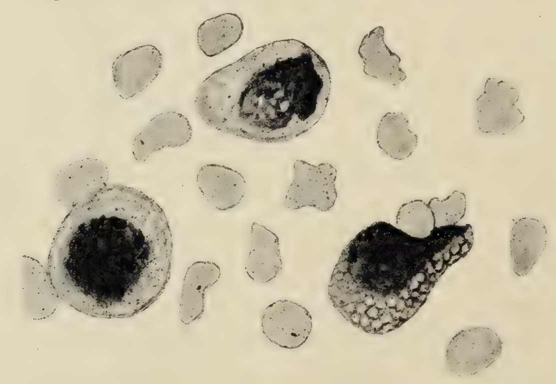


Fig. 2. — Dégénération plus avancée.

remuer les globules), la couche supérieure des globules rouges se montre très riche en leucocytes et c'est elle qui est utilisée pour les expériences. Pour se procurer des globules blancs du cobaye, il faut ajouter au sang, pauvre en polynucléaires, de l'exsudat péritonéal prélevé 5 heures après une injection de bouillon ordinaire ou du sérum de cheval; ce mélange est traité comme il a été décrit plus haut. Chez le lapin, c'est l'exsudat pleurétique obtenu par injection intrapleurale de la gluten-caséine (18-24 heures d'avance) qui est ajouté au sang. Pour rechercher l'action leucocidique des cultures, soit entières, soit centrifugées, soit enfin filtrées [1], on procède de la façon suivante : à l'aide d'une petite poire en caoutchouc adaptée à l'extrémité large d'un tube capillaire on aspire dans celui-ci les globules jusqu'à une marque tracée sur le tube, on laisse entrer une petite bulle d'air, après quoi on aspire de nouveau la culture jusqu'à la même marque. En aspirant les deux colonnes dans la partie large du tube on les mélange, puis on les laisse descendre dans la partie capillaire dont l'extrémité libre est fermée à la lampe. Le mélange effectué de cette manière est porté à l'étuve à 37° C.; après 1 à 2 heures, on ouvre l'extrémité fermée et on examine le contenu en goutte suspendue ou bien on l'étale sur une lame dépolie à l'aide du papier d'émeri, comme on le fait pour les préparations de sang. C'est le bord libre de cet étalement qui contient la plupart des leucocytes. Les préparations fixées à l'alcool méthylique pendant 1-2 minutes sont ensuite colorées à la fuchsine phéniquée diluée au 5e ou au 10e pendant 20 à 30 minutes, ce qui donne des images très nettes. Pour voir plus de détails cytologiques, on peut se servir de la coloration de Leishman ou bien de préférence du bleu de Marino.

S'il y a une action leucocidique, ce sont surtout des polynucléaires, sur lesquels elle porte, les lymphocytes aussi bien que les macrophages n'offrant pas de modifications appréciables. On voit alors, en goutte suspendue, les leucocytes perdre leurs

1. Mes recherches m'ont démontré que les filtres (bougie Chamberland) retiennent la plus grande partie de la substance active (dans une expérience, par exemple, l'activité de la culture filtrée était 200 fois moindre que celle de la culture centrifugée). Des constatations analogues ont été faites pour la toxicité de ses cultures par Leclainche et Vallée, et par Schattenfroh et Grassberger. C'est pour cela que, pour la plupart, je me suis servi des cultures débarrassées des microbes par centrifugation (5-6 heures à grande vitesse).

mouvements, s'arrondir et devenir homogènes, les granulations se raréfient et se réunissent en un point, le noyau perd sa polymorphie, devient rond et clair et se présente comme une vésicule vide au milieu de la cellule ronde. Sur les préparations colorées on voit la diminution du nombre des granulations, les lobes du noyau soudés en une masse arrondie aux contours peu nets, prenant mal les couleurs. Si on prolonge l'action de la

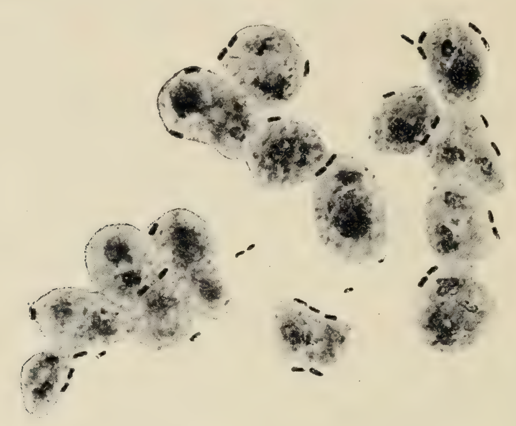


Fig. 3. — Bacilles accolés aux leucocytes.

leucocidine ou bien si celle-ci est très prononcée, elle peut aboutir à une désagrégation presque complète du globule, qui devient extrêmement altérable par la pression mécanique. Parfois, si l'on se sert d'une culture entière, on voit des leucocytes dégénérés entourés de bacilles dont aucun pourtant n'entre dans la cellule, constatation qui a été faite à propos du pneumocoque par Rosenow. Ces lésions rappellent tout à fait celles que produit la leucocidine staphylococcique et celle du bac. pyocyanique.

Les mêmes modifications ont été constatées par Wolff dans certaines pleurésies humaines et par Weil et Nakayama à propos de l'action de l'agressine du *B. subtilis* sur les leucocytes du cobaye [1].

La description donnée plus haut se rapporte aux globules de

1. Il s'agit ici évidemment d'une action leucocidique et l'inhibition de la phagocytose n'est probablement pas spécifique. Il faut cependant remarquer qu'avec l'échantillon qui a servi aux expériences de V. et N. et qui m'a été obligeamment fourni par M. le Dr Weil, je ne pus jusqu'à présent reproduire les lésions décrites par ces auteurs ni avec les leucocytes du cobaye ni avec ceux de l'homme.

l'homme ou de lapin, les globules du cobaye ne présentant que très rarement des modifications morphologiques appréciables. Pour mettre en évidence les changements subis par ces globules en présence de la leucocidine, je les soumettais à une épreuve biologique, c'est-à-dire qu'après un contact d'une à deux heures, j'y ajoutais une émulsion des staphylocoques dans un sérum normal frais (de cobaye ou de lapin) et j'examinais, après un séjour d'une demi-heure à l'étuve, le degré de phagocytose. Comme on le sait par les recherches de Wright, les globules normaux phagocytent dans ces conditions d'une façon très remarquable; tandis que chaque altération des globules se traduit par une diminution ou une disparition de la phagocytose.

Après avoir constaté l'action leucocidique du bacille du charbon symptomatique et du vibrion septique, il fallait rechercher les conditions dans lesquelles ces bactéries produisent leur poison, et dans ce but je les ai cultivées d'après

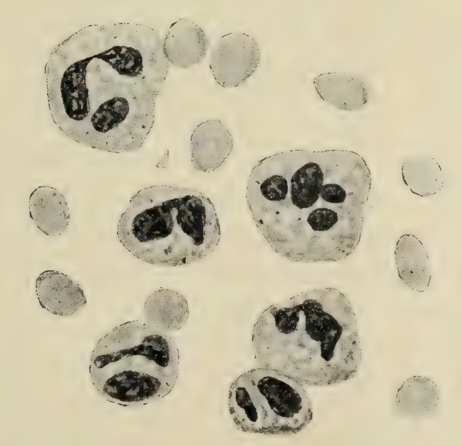


Fig. 4. — Contrôle. — Polynucléaires intacts.

les différentes méthodes préconisées pour la culture de ces anaérobies. C'est ainsi que j'ai employé le bouillon Martin en tube vaseliné (d'après Legros) ou en tube cacheté (d'après Rosenthal), le bouillon simple ou le bouillon Martin additionné de sang ou de sérum de cobaye, de lapin ou de cheval dans des pipettes en boule en faisant le vide à la trompe. A côté de ces procédés j'appliquai aussi la culture aérobie soit en bouillon

simple en tube étroit (d'après Rosenthal), soit en bouillon avec des morceaux d'organes ou de pommes de terre stérilisés ou non (d'après Tarozzi, Wrzosek et Harras), soit en bouillon additionné de sang ou de sérum de cobaye, de lapin ou de cheval ou de liquide d'ascite humain. On a aussi des résultats positifs avec les cultures aérobies de nos microbes en symbiose avec le *B. subtilis* ou *B. prodigiosus*, d'après le procédé employé par Debrand pour la préparation de la toxine tétanique. Comme résultat général de ces investigations, je peux dire qu'avec chaque procédé on arrive à obtenir une production de leucocidine et que l'abondance et la vitesse de cette production sont proportionnelles aux conditions de croissance et de vitalité que trouve le microbe dans la culture. Ce sont surtout les milieux additionnés de volume égal ou du cinquième de sang ou de sérum de cobaye ou de lapin qui se prêtent le mieux à la production de la leucocidine, en même temps qu'ils donnent un très bon développement microbien. Dans des conditions favorables on peut déjà, après 18 heures de culture, obtenir une remarquable quantité de leucocidine, ce qui plaide en faveur de la thèse que la toxine est une sécrétion vitale du microbe, car il est peu vraisemblable qu'après un temps si court la désagrégation des microbes ait déjà eu lieu dans la culture. Quant à la leucocidine staphylococcique, elle apparaît dans les cultures au quatrième jour. (Neisser et Wechsberg), celle du bacille pyocyanique a été constatée dans les cultures sur gélose de vingt-quatre heures, elle présente donc une analogie étroite avec notre poison. Le maximum de toxicité est atteint au bout de 5-10 jours de culture, selon la rapidité et la richesse de pullulation. L'activité de notre toxine est assez grande, les cultures pouvant être diluées au 20e, 40e et même au 80e T, sans perdre leur efficacité leucocidique. Comme la leucocidine staphylococcique, notre poison leucocytaire est thermolabile; elle est détruite par un chauffage d'une demi-heure à 50°-55° C (la première température n'étant pas toujours suffisante pour le détruire complètement). La leucocidine staphylococcique, d'après Neisser et Wechsberg, est détruite par un chauffage de 20 à 50° C; cette légère différence tient probablement à ce que notre méthode est plus sensible que celle de ces auteurs, car elle met en jeu une quantité

beaucoup moindre de leucocytes et démontre encore la présence de traces de leucocidine. Notre leucocidine se conserve assez bien, si on la garde en tube scellé, dans lequel on a eu soin de faire le vide, et à basse température ; de telle façon on peut voir son activité inaltérée, même après des mois, sans y ajouter d'agent conservateur. J'ai même observé que la leucocidine n'avait pas disparu dans un tube de bouillon contenant un morceau de foie ou de rate de cobaye ensemencé depuis 2 mois en culture aérobie et gardé à la température de la chambre.

La stabilité relative de la leucocidine des anaérobies la distingue de la leucocidine staphylococcique, qui s'affaiblit assez vite même à la glacière, pour disparaître définitivement après quelque temps de conservation. L'action la plus nuisible sur notre poison est exercée par le contact de l'air; ainsi si l'on étale le liquide en couche mince sur le fond d'un matras d'Erlenmeyer et si on laisse pendant quelques jours à l'étuve de 37° C, la leucocidine devient complètement inactive. Il serait intéressant de voir si le poison inactivé de cette façon garde sa propriété d'entrer en combinaison avec les globules blancs sans les modifier, c'est là un phénomène décrit pour différentes toxines par Ehrlich comme transformation de toxine en toxoïde. On peut mettre en évidence une telle modification de deux façons : ou bien on démontre qu'il faut la même dose d'antitoxine pour neutraliser une dose de toxine active ou affaiblie. Ou bien on constate, que la toxine inactivée a une action inhibitrice sur l'action de la toxine active. Mes tentatives dirigées vers ce dernier point sont restées sans résultat jusqu'à ce jour, tandis qu'elles ont donné un résultat positif quant à l'hémolysine comme on le verra plus loin.

Jusqu'à présent nous nous sommes occupés de la leucocidine seulement comme d'un produit élaboré dans nos cultures, mais il est facile de comprendre, que si elle n'était que cela, l'intérêt qui s'attache à elle serait médiocre. La question principale est évidemment de savoir si elle est aussi produite dans l'animal infecté et si elle joue quelque rôle dans la pathogénie des infections provoquées par nos microbes. Si l'on examine à cet égard diverses descriptions anatomo-pathologiques de ces infections, on trouve parfois mentionnées des lésions des leucocytes, sans que les auteurs y insistent beaucoup. Ainsi dans

l'étude magistrale du charbon symptomatique donnée par Arloing, Cornevin et Thomas nous trouvons notés « des amas, de globules rouges ou de leucocytes ratatinés » (p. 50) et « une poche remplie de pus grumeleux ou de cellules lymphatiques mortes » (p. 52). Ruffer en introduisant du premier vaccin du charbon symptomatique sous la peau des lapins, trouve que « beaucoup des leucocytes ont péri dans la lutte, comme on le voit clairement d'après les signes de dégénérescence qu'ils manifestent » (p. 677). Naturellement on ne trouve pas toujours cette destruction ou dégénérescence des leucocytes, divers facteurs entrant en jeu. Tout d'abord la virulence du microbe infectant et l'intensité du processus local, qui en dépend, peuvent se traduire par l'apparition ou la non apparition de ces modifications comme on le verra plus tard. Ensuite, il ne faut pas oublier que la sensibilité des leucocytes des diverses espèces animales varie et, en conséquence aussi, le degré des lésions qu'ils offriront.

Nous avons vu que les leucocytes de cobaye qui ne présentent que très rarement des lésions morphologiques manifestes sont néanmoins influencées par la leucocidine. Enfin — et c'est là une circonstance de très grande importance — les choses ne se passent pas *in vivo* comme dans le tube à essai ; les leucocytes étant doués d'une grande sensibilité vis-à-vis des agents, qui menacent leur vie, peuvent se soustraire à leur action, grâce à la chimiotaxie négative exercée par les agents. Or, s'il y a une production de leucocidine par le microbe infectant, même en petite quantité, il faut s'attendre à ne pas trouver de leucocytes au lieu de l'invasion et de multiplication microbienne, ou à n'en trouver que très peu là où la concentration de la leucocidine est trop faible pour enrayer l'afflux leucocytaire. Mais si d'un côté, dans l'organisme infecté, les leucocytes ne sont pas forcés de subir l'action délétère de la leucocidine à laquelle ils sont abandonnés *in vitro* sans pouvoir la fuir, d'un autre côté, le poison même ne reste pas libre comme dans notre tube, mais peut être fixé par le tissu environnant ou résorbé par voie lymphatique ou sanguine — c'est là ce qu'on observe à la périphérie du foyer de multiplication des microbes. Malgré cette multiplicité des facteurs on remarque, en général, dans les infections avec nos microbes, l'absence des

leucocytes au niveau des lésions pathologiques, si du reste l'infection est assez forte, le microbe assez virulent (la virulence étant liée à la production de leucocidine, comme nous allons le voir). (Rogowitsch, Hibler, Kamen.)

En dehors de ces preuves indirectes de la production de leucocidine dans l'organisme infecté (dégénérescence ou absence des leucocytes), on peut aussi en fournir une directe.

Si l'on recueille l'exsudat, le plus souvent sanguinolent, d'un cobaye ayant succombé à une infection sous-cutanée ou intrapéritonéale de nos microbes, on y peut découvrir la présence de leucocidine en le mélangeant *in vitro* avec les leucocytes lavés, comme nous l'avons vu plus haut avec les cultures.

Il reste encore un point de grande importance à élucider : c'est le rapport entre la production de leucocidine et la virulence de nos microbes.

Dans mes recherches j'ai étudié sept échantillons de diverses provenances : le vibrion septique B et G de la collection de l'Institut Pasteur (qui m'ont été obligeamment fournis par M. Binot, que je tiens à remercier ici chaleureusement), R (que je dois à l'amabilité de M. le docteur Rosenthal), K (de Kral à Prague) le bac. du charbon symptomatique, B et V de la collection de l'Institut, Z de la collection de l'Institut d'hygiène et de bactériologie de Cracovie.

Parmi ces sept échantillons, trois ont d'emblée produit de la leucocidine dans leurs cultures aussi bien que dans l'animal, les quatre autres en étaient dépourvus. Comme ces quatre échantillons étaient de vieilles cultures de laboratoire, très peu virulentes, j'ai résolu d'exalter leur virulence par des passages réitérés sur le cobaye, en commençant par l'injection de larges doses de cultures.

En effet, j'y ai réussi avec trois échantillons, le quatrième (le vibrion septique de Kral) a résisté à tout essai d'exaltation de virulence. Or, en même temps les trois échantillons ont acquis (ou récupéré?) la faculté de produire la leucocidine d'abord *in vitro* et ensuite aussi dans les cultures, tandis que l'échantillon avirulent n'y est pas parvenu. Un fait analogue a été constaté chez le staphylocoque par Neisser et Wechsberg; ces auteurs ont réussi à restituer, par quelques passages sur le lapin, son pouvoir leucocidique à un échantillon, qui, à la suite

d'un long séjour dans les milieux artificiels, avait presque complètement cessé de produire la leucocidine.

D'après ces expériences on peut déjà établir un rapport étroit entre la virulence et la production de leucocidine chez nos aérobies et attribuer un rôle important à cette production dans la pathogénie de l'infection. On comprendra facilement qu'un microbe, qui s'est introduit dans un organisme, ne parviendra à l'infecter qu'à condition de combattre avec succès les forces de défense de cet organisme tendant à le détruire ou à l'éliminer. Or, comme les leucocytes, en détruisant les microbes par la phagocytose et en neutralisant leurs poisons, sont un des principaux moyens de défense, il va sans dire qu'un microbe sécrétant un poison qui tue ces leucocytes et entrave leur arrivée par chimiotaxie négative, parviendra plus facilement à s'établir dans un organisme à infecter, qu'un autre de la même espèce, qui est dépourvu de telles armes.

En effet, il y a une série de recherches très ingénieuses qui démontrent d'une façon probante l'importance de la chimiotaxie négative dans les infections anaérobiques. Ainsi, Vaillard et Vincent ont trouvé que les spores tétaniques bien lavées ou chauffées à 65° et, partant, privées de leur toxine ne provoquent pas de tétanos chez les animaux sensibles, tandis que si on leur ajoute leur toxine ou un autre agent provoquant de la chimiotaxie négative des leucocytes, on voit la maladie se développer.

Ils expliquent ce fait par l'action chimiotaxique négative de la toxine, qui est détruite à 65° C.

Les recherches de Besson ont confirmé ces résultats quant au vibrion septique; seulement ici il faut chauffer la toxine à 85° pendant 2-3 heures pour changer sa chimiotaxie négative en positive. Très intéressante est à notre point de vue la constatation de Besson, que l'infection par le vibrion septique peut être facilitée si l'on associe à une dose du vibrion, inefficace par elle-même, du staphylocoque doré, mais à condition qu'il vienne d'être isolé de l'organisme infecté. Or, nous savons qu'un tel staphylocoque produit de la leucocidine et c'est problablement par intervention de la chimiotaxie négative provoquée par celle-ci que l'infection devient possible. Des constatations analogues ont été faites par Leclainche et Vallée à propos du

bacille du charbon symptomatique : les spores privées de leur toxine sont bien supportées en grandes quantités, tandis qu'en leur ajoutant de la toxine ou de l'acide tartrique on arrive à faire succomber les animaux. Cette toxine exerce aussi une chimiotaxie négative, qui, par un chauffage de 2 heures à 70°-75° C., est changée en positive. Il est cependant important de remarquer une certaine divergence entre mes résultats relatés plus haut et ceux que je viens de résumer; tandis que dans mes expériences l'action leucocidique des cultures disparaît après un chauffage d'une demi-heure à 50-55° C., il faut les chauffer à 70-85° pour faire disparaître l'action chimiotactique négative.

La différence n'est peut-être, du reste, qu'apparente, car il pourrait s'agir ici de deux fonctions d'une même substance, qui offrent une sensibilité différente vis-à-vis de la chaleur.

Le rapport qui existe entre la production de leucocidine et la virulence des anaérobies, ainsi que le rôle qu'elle joue dans la pathogénie de l'infection anaérobique, la rapprochent beaucoup des « agressines », dont l'existence et l'importance pathologique ont été tant discutées dans ces temps derniers. On sait que par ce nom (créé par Kruse) Bail et ses élèves désignent des substances sécrétées par les microbes dans l'organisme infecté, dont la qualité essentielle serait de neutraliser les moyens de défense de cet organisme et surtout d'enrayer la phagocytose. Injectée en même temps qu'une dose inférieure à la dose minima mortelle du microbe qui l'a produit, l'agressine rend l'inoculation mortelle, l'infection légère ou moyenne devient grave en sa présence. Or, d'après cette définition, la leucocidine décrite plus haut entrerait dans le cadre des « agressines » et comme telle devrait être rapprochée de celle du staphylocoque du bacille du foin, dont l'action est probablement aussi celle d'une leucocidine. Seulement il y a lieu de faire quelques remarques sur ce point. Notre « agressine » est produite non seulement *in vivo*, comme le prétend Bail, qui fait de cette propriété un attribut essentiel de son corps nouveau, mais aussi dans les cultures et, ce qui est encore plus intéressant, dans les cultures au maximum de leur vitalité. (Elle ne serait pas un produit de macération et de désagrégation, comme les « agressines artificielles » de Wassermann et Bruk). Des constatations analogues ont été faites par Lévy et Fornet, qui

ont pu démontrer une action « agressique » de cultures typhiques et paratyphiques filtrées après 24 heures. Notre « agressine » est de plus toxique (ou au moins accompagnée par une toxine), comme il résulte des recherches de Roux, Duenschmann, Leclainche et Vallée, Schattenfroh et Grassberger et des nôtres; cette toxicité des « agressines », contestée d'abord par Bail et ses collaborateurs, a du reste été constatée à propos du bacille dysentérique (Bail et Weil), du staphylocoque (Bail et Kikuchi) et tout récemment du bacille typhique (Bail). Je ne pourrais dire, pour le moment, si l'on doit considérer l'action leucocidique comme une fonction de la toxine ou si elle est due à un corps différent.

Comme la symbiose avec des divers germes aérobies joue un grand rôle dans la pathogénie des infections expérimentales et probablement aussi spontanées, il serait très intéressant d'établir le mécanisme de cette action favorisante. Vaillard et Vincent pensent, que le *micr. prodigiosus*, en provoquant une phagocytose intense, détourne les phagocytes des spores tétaniques et de telle façon rend possible l'infection. Cette explication se trouve corroborée par l'expérience de Besredka, d'après laquelle les leucocytes bourrés de grains de carmin refusent de phagocyter les cristaux de trisulfure d'arsenic, dont ils s'emparent énergiquement dans des conditions normales. Mais à côté de cette action il est possible que les microbes favorisants affaiblissent ou annihilent la phagocytose par une action leucocidique. Le staphylocoque doré que nous trouvons parmi ces microbes est producteur d'une leucocidine (Besson remarque que seulement les échantillons qui viennent d'être isolés de l'organisme infecté jouissent d'une action favorisante, ce qui concorde bien avec la constatation de Neisser et Wechsberg, que ce sont justement ceux qui produisent la leucocidine); Helly trouve une action leucocidique aux cultures filtrées du bac. de Friedlaender, Weil et Nakayama aux « agressines » du *bac. subtilis*. D'autres microbes tuent probablement les leucocytes, non par des leucocidines du type des ectotoxines, mais par des endotoxines, c'est-à-dire par des leucocidines qui sont mises en liberté par la digestion phagocytaire du microbe. Ainsi j'ai pu remarquer que si l'on ajoute *in vitro* une émulsion du *micr. prodigiosus* à des leucocytes et ensuite une émulsion des sta-

phylocoques (sensibilisés), il y a une phagocytose intense des coccobacilles mais, les coques ajoutés ultérieurement restent libres, tandis que les leucocytes normaux s'en bourrent complètement. Le même phénomène se passe si, au lieu du *micr. prodigiosus*, on prend le pneumobacile de Friedlaender. C'est à la même action endotoxique des microbes phagocytés, qu'il faut attribuer la dégénération des leucocytes après ingestion du bac. typhique et du vibrion cholérique, décrite tout récemment par Neufeld et Hüne, l'action leucocidique du bac. pyocyanique trouvée par Metchnikoff et Gheorghewsky, celle du colibacille décrite par Beattie, celle du bac. morveux tué signalée dans ce temps dernier par Cantacuzène et Riegler et peut-être aussi celle qu'on a observée après la phagocytose du bac. de Koch (Borrel, Maurel, Calmette). Il me semble très probable que cette action leucocidique des endotoxines joue un rôle important dans la pathogénie des diverses infections.

Après avoir constaté la production de leucocidines chez nos anaérobies, il était indiqué de rechercher si on peut neutraliser son action soit par un sérum normal, soit par un sérum spécifique obtenu par immunisation avec notre toxine. Contrairement à ce qui a été constaté pour la leucocidine staphylococcique, je n'ai pas trouvé d'action antileucocidique au sérum normal de lapin ou de cheval, même en proportion de 20 volumes de sérum pour 1 volume de toxine, après un contact de 3 heures à la température de la chambre. Par contre, le sérum de cobaye normal offre parfois (mais pas constamment) un pouvoir neutralisant assez remarquable. L'immunisation des lapins contre notre poison est assez difficile, les cultures étant très toxiques et mal supportées (même les cultures âgées de 50 jours). C'est à cause de cette circonstance que je n'ai réussi à faire supporter des doses moyennes de toxine, qu'à deux lapins, dont un seulement a fourni un sérum actif vis-à-vis de notre leucocidine (et en même temps antitoxique). Ce lapin a reçu trois injections intraveineuses de culture du bac. de charbon symptomatique; son sérum pris avant les injections et conservé dans une pipette scellée s'est montré inactif dans les conditions indiquées plus haut; après l'immunisation il neutralisait la leucocidine en proportion de 2 volumes de sérum pour 1 volume de toxine, mais non à parties égales. Ce qui est remarquable, c'est que ce sérum

obtenu avec la toxine du bac. du charbon symptomatique neutralisait aussi, et dans les mêmes proportions, la leucocidine du vibrion septique. Il serait naturellement prématuré de conclure de cette expérience unique que les leucocidines de nos deux espèces anaérobies sont identiques (des faits analogues ont été constatés par Zupnik et par Kraus et Pribram à propos des vibrions choléroïdes) ; toutefois ces expériences méritent d'être répétées plus exactement qu'il ne m'a été possible de le faire. L'expérience suivante a été faite pour voir si le chauffage d'un mélange de leucocidine et d'antileucocidine peut dissocier leur combinaison.

Expérience. — Un mélange à parties égales de leucocidine du charbon sympt. et de sérum de lapin antitoxique reste 1 heure 1/2 à la température de la chambre, ensuite les mélanges suivants sont préparés, auxquels on ajoute, après 30 minutes de contact, une partie égale d'une émulsion de globules blancs humains; le résultat quant à l'action leucocidique est noté après un séjour d'une heure à l'étuve.

1. 5 vol. [Toxine + Sérum ââ] + 1 vol. de sol. physiol. — dégénération intense.

2. 5 vol. [Tox. + Sér. ââ chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de sol. physiol. — pas de dégénération.

3. 5 vol. [Tox. + Sér. ââ chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de toxine. — dégénération intense.

4. 5 vol. [Tox. + Sér. ââ chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de tox. dil. 1/2 — dégénération intense.

5. 5 vol [Tox + Sér. ââ chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de tox dil. 1/4 — *pas de dégénération.*

6. 5 vol. de sol. physiol. + 1 vol de toxine — dégénération intense.

7. 5. vol. de sol. physiol. + 1 vol. de tox. dil. 1/2 — dégénération intense.

8. 5 vol. de sol. physiol. + 1 vol. de tox. dil. 1/4 — dégénération intense.

Cette expérience démontre qu'un mélange de leucocidine et d'antileucocidine contenant un excès de la première (voir tube 1) devient antitoxique par un chauffage qui détruit la toxine; toutefois l'effet est très modéré et ne restitue qu'une partie bien faible d'antitoxine contenue dans le mélange.

Après avoir constaté la production de leucocidine par nos deux anaérobies, il était indiqué de rechercher s'ils produisent des hémolysines. En effet, deux autres anaérobies, le bac. tétanique et le *Bac. perfringens* (*Bac. d'Achalme, Bac. phlegmones emphysematosæ* Fraenkel-Welch), produisent aussi des hémolysines (Ehrlich, Kamen). De plus, la coloration rouge des épanche-

ments est un des symptômes caractéristiques de la gangrène gazeuse et du charbon symptomatique. Mes expériences ont complètement confirmé cette prévision en démontrant une production très nette des hémolysines, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Pour mettre en évidence l'hémolysine, je me suis servi de deux méthodes; la première a été décrite à propos de la recherche des leucocidines, les tubes de Wright offrant l'avantage qu'on peut à la fois constater l'action hémolytique et leucocidique; on peut aussi se servir d'une émulsion plus diluée des globules rouges lavés, par exemple à 20 0/0 ou 10 0/0. Pour cette recherche, il vaut mieux se servir de tubes capillaires plus larges qu'à l'ordinaire et les maintenir debout jusqu'à la fin de l'expérience, c'est-à-dire pendant 20-24 heures. S'il s'agit d'avoir des résultats plus exacts, on se servira de préférence de la méthode ordinaire qui consiste à mélanger une émulsion à 5 0/0 des globules lavés avec une quantité égale de culture entière ou diluée, et de noter les résultats après 2 heures d'étuve et après 24 heures de séjour à la température de la chambre.

Quant aux conditions de la production d'hémolysine, on peut répéter tout ce qui a été dit au sujet de la leucocidine; tout ce qui a une influence sur l'apparition et la richesse de la leucocidine agira de la même façon sur celle de l'hémolysine. On peut la constater dans les cultures obtenues suivant les divers procédés mentionnés plus haut, parfois déjà après 18 heures de développement.

Comme cela été démontré à propos des différentes autres hémolysines, les globules rouges de différentes espèces offrent une sensibilité variable vis-à-vis de notre hémolysine; voici la liste par ordre décroissant de sensibilité : globules du cobaye, de la souris, du rat, de l'homme, du lapin, du cheval, du bœuf, de la poule, du mouton. Les différences de sensibilité peuvent être très remarquables, si l'on prend les extrêmes de l'échelle; ainsi par exemple pour provoquer l'hémolyse complète d'un centimètre cube de sang de mouton à 5 0/0, il fallait lui ajouter 1 c. c. de toxine, tandis que pour hémolyser complètement la même quantité de sang de cobaye, il a suffi de 0,005 c. c. de la même toxine, ce qui fait une sensibilité 200 fois plus grande. Cette différence vraiment énorme peut

être expliquée de deux façons différentes; ou bien il y a une hémotoxine homogène et les différentes espèces des globules l'absorbent d'une façon différente selon leur avidité pour elle, ou bien notre hémotoxine est composée des différentes toxines partielles, qui agissent sur les différentes espèces des globules, et s'y trouvent dans des proportions très différentes. L'expérience suivante permet de répondre à cette question : on ajoute à une quantité d'hémolysine des globules lavés de mouton, après un contact d'une heure on centrifuge, on décante le liquide surnageant, on lui ajoute une nouvelle portion de globules, on centrifuge et décante le liquide pour la seconde fois et l'on répète la même manipulation encore une fois. Le liquide décanté après la troisième centrifugation est ensuite évalué, quant à son pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules de mouton et de cobaye, et ces valeurs sont comparées à celles de la toxine originaire non absorbée. Si l'hémotoxine est unique, l'absorption aura produit une diminution proportionnelle du pouvoir hémolytique pour les deux espèces de sang; si au contraire il y a dans l'hémotoxine une série des toxines partielles, l'absorption épuisera le pouvoir hémolytique pour le sang de mouton, le laissant plus ou moins intact pour le sang de cobaye. C'est cette dernière éventualité qui se trouve vérifiée par l'expérience suivante.

Expérience. — A. liquide décanté après la troisième absorption de l'hémolysine du charbon symtomatique par les globules lavés de mouton.

B. Hémolysine non absorbée.

Tous les tubes reçoivent de quantités variées de A ou de B 0,1 c. c. d'émulsion de globules lavés à 50 0/0 et on ajoute la quantité d'eau physiologique nécessaire pour faire un volume de 2 c. c. Résultat hémolytique après 2 heures à 37° C. et après 24 heures à la température de la chambre.

Hémolyse : c. = complète, p. c. = presque complète, f. = forte, fai. = faible, t. = trace, n. = nulle.

QUANTITÉ de		GLOBULES LAVÉS DE							
		Mouton.		Rat.		Homme.		Cobaye.	
A	1.9	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	1.0	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.5	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.2	—	—	p. c.	c.	fai.	c.	c.	c.
	0.1	—	—	f.	f.	t.	p. c.	c.	c.
	0.05	—	—	fai.	f.	n.	f.	p. c.	c.
	0.02	—	—	—	—	—	—	fai.	p. c.
	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
B	1.9	t.	c.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	1.0	t.	f.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.5	n.	f.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.2	—	—	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.1	—	—	p. c.	c.	p. c.	c.	c.	c.
	0.05	—	—	fai.	f.	f.	c.	c.	c.
	0.02	—	—	n.	fai.	n.	f.	p. c.	c.
	0.01	—	—	—	—	—	—	f.	p.c.
Contrôle.	0	n.	n.	n.	n.	n.	t.	n.	n.

Nous trouvons donc qu'après contact avec le sang de mouton le pouvoir hémolytique vis-à-vis de ce sang est complètement épuisé, tandis qu'il n'est presque pas diminué vis-à-vis des trois autres espèces des globules. Des constatations analogues ont été faites par Todd à propos de la mégathériolysine et par Volk et Lipschitz à propos de la staphylolysine.

La sensibilité de notre hémotoxine vis-à-vis des facteurs physiques et chimiques la rapproche des autres hémolysines thermolabiles, telles que la staphylolysine, et est essentiellement identique à celle de la leucocidine de nos anaérobies, ou même encore plus grande. L'hémolysine est détruite par le chauffage à 50° 55° C. par le contact de l'air et par l'action prolongée

de la température de la chambre; même à la glacière elle s'affaiblit peu à peu, tandis que la leucocidine est très bien conservée à cette température (c'est le contraire qui a été observé par Neisser et Wechsberg à propos de l'hémolysine et de la leucocidine staphylococcique). Une hémolysine inactive par un séjour de 3 jours à l'étuve acquiert la propriété d'entraver l'action hémolytique de la toxine active; le résultat est le même si l'on ajoute aux globules, d'abord la toxine inactivée et ensuite la toxine active (a), ou si l'on mélange en même temps la toxine active et inactive aux globules (b), comme le démontre l'expérience suivante :

A

Tox. inact.	Sol. physiol.	Sang 50 0/0.	Après 2 h. 37°.		Résultat.	
1.9	0	0.1	n.	On ajoute à tous les tubes 0.1 de tox. act. dil. au 1/4.	n.	t.
1.0	0.9	0.1	n.		t.	fai.
0.5	1.4	0.1	n.		f.	p. c.
0.2	1.7	0.1	n.		p. c.	c.
0.1	1.8	0.1	n.		c.	c.
0	1.9	0.1	n.		c.	c.

B

Tox. inact.	Tox. act. (1/4).	Sol. physiol.	Sang 50 0/0.	Résultat.	
1.9	0.1	0	0.1	n.	t.
1.0	0.1	0.9	0.1	t.	fai.
0.5	0.1	1.4	0.1	f.	f.
0.2	0.1	1.7	0.1	p. c.	p. c.
0.1	0.1	1.8	0.1	c.	c.
0	0.1	1.9	0.1	c.	c.
0	0	2.0	0.1	n.	n.

Si la toxine est inactivée par la chaleur, l'action inhibitrice est moins nette :

Expérience : Toxine du bac. de charbon symptomatique active. La même chauffée à 56° pendant 30′; émulsion de globules lavés de cobaye à 50 0/0.

Tox. inact.	Sol. physiol.	Sang 50 0/0	Après 2 h. 37°.		Résultat.	
1.9	0	0.1	n.	On ajoute à tous les tubes 0.1 de tox. act. dil. au 1/2.	f.	t.
1.0	0.9	0.1	n.		p. c.	c.
0.5	1.4	0.1	n.		c.	c.
0.2	1.7	0.1	n.		c.	c.
0.1	1.8	0.1	n.		c.	c.
0	1.9	0.1	n.		c.	c.

Ces faits démontrent que l'inactivation transforme l'hémolysine en une modification privée de l'action spécifique sur les globules, mais gardant encore l'affinité pour eux; si une

quantité suffisante de cette toxine inactivée se combine aux globules, la toxine active n'a plus d'action sur eux et l'hémolyse est entravée totalement ou partiellement. Comme les globules peuvent fixer un grand excès d'hémolysine (Volk), la dose empêchante de toxine modifiée sera forcément assez élevée (80 fois plus grande que celle de toxine active dans l'expérience relatée), ce qui se trouve d'accord avec les faits constatés à propos d'agglutinoïdes et précipitoïdes (Bail, Eisenberg et Volk, Kraus et V. Pirquet, Muller, Eisenberg). Le fait que le résultat reste le même, à quelque moment que l'on ajoute la toxine active, prouve que la toxine inactive est douée d'une affinité plus grande pour les globules que l'active. Des modifications analogues ont été constatées par Centanni et par Ciuffo à propos de l'hémolysine diphtérique (stomosines) et par une autre méthode, par Volk et Lipschütz, à propos de la vibriolysine (lysinoïde).

L'union entre notre hémolysine et les globules rouges semble s'opérer d'après la loi des proportions multiples; le phénomène de Bordet, décrit par ce savant à propos des couleurs et des hémolysines animales, se retrouve ici très nettement : si à une quantité déterminée d'hémolysine on ajoute, en une fois, une quantité de globules, elle sera complètement dissoute, mais si on l'ajoute en doses fractionnées, l'hémolyse restera incomplète.

Expérience. — Deux séries de tubes reçoivent chacun 0,2 c. c. de toxine ; on ajoute ensuite aux tubes de la première série 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2 1,1, c. c. d'émulsion des globules lavés de cobaye à 50 0/0 et de la solution physiologique pour établir partout un volume de 2 c. c.; aux tubes de la seconde série on ajoute les mêmes quantités de sang, mais en dose de 0,1 c. c. toutes les 10′; après on remplit à 2 c. c. Résultat : hémolyse complète dans tous les tubes de la première série, complète dans les tubes avec 0,5, 0,6, 0,7 c. c. de sang de la seconde, incomplète dans les autres avec 0,8, 1,2 c. c. de sang.

L'hémolysine, comme nous l'avons déjà dit, n'est pas produite seulement *in vitro*, mais, et c'est là un point important, aussi *in vivo*, aussi bien dans les infections expérimentales que spontanées. L'exsudat péritonéal ou sous-cutané des animaux infectés avec nos anaérobies (pourvu qu'ils aient un degré suffisant de virulence) contient de l'hémolysine qu'on peut

mettre en évidence *in vitro*. D'un autre côté, il est bien connu, que la teinte hémorragique provenant de l'hémoglobine dissoute est un des signes caractéristiques anatomo-pathologiques de la gangrène gazeuse et du charbon symptomatique. On ne connaissait pas jusqu'ici d'infection naturelle dans laquelle on pourrait constater l'action des hémolysines, qu'on démontre si facilement *in vitro* (l'hémolyse streptococcique s'observant seulement dans l'infection expérimentale du lapin.

Je ne peux pas être d'accord sur ce point avec Froin, qui, dans une note récemment publiée (*Compt. Rend. Soc. de Biol.* 1907, n° 8), déclare que « les anaérobies n'entraînent pas d'extravasation globulaire notable et consécutivement pas de diapédèse leucocytaire ». La première thèse est en contradiction avec l'expérience anatomo-pathologique, l'autre est juste, mais s'explique bien plus facilement par l'action chimiotaxique négative de la leucocidine de nos anaérobies, comme nous avons cherché à le démontrer plus haut.

La production de l'hémolysine, de même que celle de la leucocidine, est liée à un degré de virulence du microbe; parmi mes 7 échantillons, 3 seulement ont d'emblée produit l'hémotoxine, 3 autres ont acquis cette propriété en même temps que la virulence par des passages sur le cobaye, le dernier est resté avirulent et privé de la production d'hémolysine et de leucocidine. Un tel rapport entre la virulence et la production d'hémolysine a été constaté chez le bacille pesteux par Raybaud, chez le bacille pyocyanique par Wassermann, chez le streptocoque par Marmorek, Schottmüller, Kerner, Meyer et chez le bacille diphtérique par Schwoner.

Quant à la question de savoir si hémolysine et leucocidine ne sont qu'une substance unique, ou bien si elles sont deux corps à part, je ne peux pas pour le moment me prononcer d'une façon décisive. Toutefois, faut-il remarquer que, quoique paraissant liées ensemble, elles ne le sont pas d'une façon absolue. Ainsi, pendant les passages sur le cobaye des échantillons peu virulents, j'ai vu l'hémolysine apparaître plus tôt que la leucocidine. Au contraire on arrive, dans les cultures vieillies, à démontrer l'existence de la leucocidine, tandis que l'hémolysine est complètement inactivée, ce qui prouverait une certaine indépendance de ces deux fonctions. A côté de l'hémo-

lyse, on observe parfois une agglutination très nette des hématies; si l'hémolyse est un peu lente, on peut voir les globules tomber en grands amas au fond du tube dans un temps très court, parfois même dans les tubes où la quantité d'hémolysine est trop petite pour provoquer même une trace d'hémolyse. Toutefois, sans entrer dans la question, non encore résolue, de l'identité des hémolysines et des hémagglutinines bactériennes, il faut retenir qu'une hémotoxine inactivée complètement par un séjour de 3 jours à l'étuve, ou par un chauffage de 30′ à 56° C peut encore très nettement agglutiner les hématies.

Comme diverses autres hémolysines, celle des anaérobies peut aussi être neutralisée par une antihémolysine contenue ou dans des sérums normaux ou dans des sérums spécifiques. Les sérums normaux de cobaye, de lapin et surtout celui de cheval exercent une action antihémolytique indéniable, mais faible. L'expérience suivante démontre que le résultat de neutralisation reste le même si on laisse agir le sérum antitoxique (de cheval) 3, 2, 1 heure, 30, 15, 5 minutes sur la toxine, avant de lui ajouter les globules ou si l'on mélange en même temps tous les trois :

Expérience. — Toxine du bac. de charbon sympt., sérum normal de cheval. Résultats après un séjour de 2 heures à l'étuve et de 24 heures à la température de la chambre; globules humains lavés à 50 0/0.

Sérum de cheval.	Toxine.	Sol. physiolog.	Globules.	Les globules sont ajoutés au mélange après						
				3h	3h	1h	30′	15′	5′	0′
2.8	0.1	0	0.1	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
1.6	0.1	1.2	0.1	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
0.8	0.1	2.0	0.1	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.
0	0.1	2.8	0.1	c. c.	— —	— —	— —	— —	— —	— —
0	0	2.9	0.1	n. n.	— —	— —	— —	— —	— —	— —

Le même mélange de toxine et de sérum de cheval, qui est neutre pour les globules humains, peut être nettement toxique pour des globules plus sensibles, comme ceux de cobaye; des faits analogues ont été constatés pour la toxine diphtérique et son antitoxine (Dreyer et Madsen, Morgenroth).

Le sérum spécifique obtenu par immunisation a une action neutralisante beaucoup plus nette. C'est le même sérum dont nous avons parlé plus haut à propos de l'antileucocidine. Les cultures qui ont servi pour l'immunisation de ce lapin étaient presque inactives au point de vue de l'hémolyse, ce qui prouve que la modification inactive de l'hémolysine, dont nous avons parlé plus haut, a gardé son affinité pour les éléments dont dérive l'antihémolysine. Le même fait a été démontré, quant à la vibriolysine, par Volk et Lipschütz, tandis que ni eux, ni Neisser et Wechsberg n'ont réussi à obtenir une antistaphylolysine par des injections d'une staphylolysine inactivée.

Le sérum de ce lapin, comme celui de 5 autres, que nous avons évalués, était presque inactif avant le début d'injections, après 3 injections il neutralisait la toxine à raison de 2 volumes pour 1 volume de toxine. Ici, comme pour le sérum normal, le temps de contact entre l'hémolysine et l'antihémolysine ne joue aucun rôle, quant au résultat de neutralisation; celui-ci reste le même, si au mélange des deux substances on ajoute les globules après 80′, 45′, 30′, 5′ ou même si l'on mélange les trois à la fois. Par contre je n'ai pas réussi, avec mon sérum, à guérir les globules déjà empoisonnés, c'est-à-dire d'empêcher l'hémolyse si j'ajoutais l'hémolysine aux globules et après 7,15 30 minutes, le sérum antitoxique.

Si l'on chauffe un mélange d'hémolysine et d'antihémolysine contenant un excès de la première substance, à une température qui détruit l'hémolysine, le mélange devient antitoxique, c'est-à-dire qu'il acquiert la propriété de neutraliser de nouvelles doses d'hémolysine ajoutées ultérieurement. Voici les détails de cette expérience :

Expérience. — Un mélange de toxine du vibrion septique et de sérum antitoxique (parties égales) est distribué par 2 c. c. dans 2 séries de 4 tubes. La série A reste telle, la série B est chauffée à 60° pendant 30′. Ensuite on ajoute partout des quantités différentes de toxine active; après une heure de contact à la température de la chambre, on ajoute encore une émulsion de globules humains lavés à 50 0/0. Les résultats sont notés après 2 heures d'étuve et après 24 heures à la température de la chambre :

Toxine.	Sérum.	Sol. phys.	Toxine.	Sang.	A		B		
1.0	1.0	0.1	0.8	0.1	c.	c.	fai.	f.	(1)
1.0	1.0	0.5	0.4	0.1	c.	c.	n.	n.	(2)
1.0	1.0	0.7	0.2	0.1	f.	p. c.	n.	n.	(3)
1.0	1.0	0.9	0.	0.1	f.	p. c.	n.	n.	(4)
0.	0.	2.7	0.2	0.1	c.	c.	—	—	
0.	0.	2.9	0	0.1	n.	n.	—	—	

La colonne A montre que le mélange non chauffé jouit aussi des propriétés antitoxiques bien que toxique par lui-même (comparaison des tubes 4 et 3), ce qui concorde avec les constatations d'Ehrlich et de Danysz; quoiqu'on ajoute ici au mélange une dose hémolytique complète, le résultat ne change pas. La comparaison des tubes 2, dans les 2 séries, montre pourtant que l'action antitoxique du mélange chauffé est plus grande que celle du mélange non chauffé : ici le résultat change déjà dans A, il reste le même dans B. Le temps de contact entre l'hémolysine et l'antihémolysine avant le chauffage n'a pas d'influence sur le résultat.

Quelques autres anaérobies que j'ai pu me procurer, le *bac. botulinus* van Ermenghem, le *putrificus* de Bienstock, ainsi que deux saprophytes de l'intestin du cobaye et du lapin se sont montrés incapables de produire de la leucocidine et de l'hémolysine.

En terminant ce travail, je remplis un agréable devoir en remerciant chaleureusement M. Metchnikoff pour l'hospitalité avec laquelle il m'a ouvert son laboratoire et pour sa bienveillance continue.

Avril 1907.

BIBLIOGRAPHIE

Arloing, Cornevin, Thomas, *Le Charbon bactérien*, Paris, 1883.
Bail, *Arch. f. Hyg.* XXX, p. 348-371.
Beattie, *Journ. of Path. u. Bact.*, VIII, p. 129-176.
Besredka, ces *Ann.*, XIII.
Besson, ces *Ann.*, IX, p. 179-198.
Borissow, *Ziegl. Beitr.*, XVI.
Borrel, ces *Ann.*, VII.
Calmette, *Tuberculosis*, V, p. 497.
Cantacuzène et Riegler, ces *Ann.*, XXI, p. 194-210.
Centanni, *Rif. med.*, 1902.
Cuffio, *Fol. haematol.*, 1906, p. 29.
Debrand, ces *Ann.*, XV, p. 758.
Denys et Van de Velde, *Cellule XI.*
Gheorghiewsky, ces *Ann.*, XIII, p. 298-318.
Helly, *Ziegl. Beitr.*, XXXVII, p. 171-278.
— *Gbt. f. Bakt. Or.*, XXXIX, p. 94-98.
V. Hibler, *ibid.*, XXV.
Kamen, *ibid.*, XXXV, p. 709-710.
Kiener et Duclert, *Arch. méd. exp.*, V, p. 705-756.
Leclainche et Vallée, ces *Ann.*, XIV, p. 202.
Levy et Gaethgens, *Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, XXV, p. 240-246.
Levy et Fornet, *Deutsche med. Woch.*, 1906, p. 1039.
Marwedel, *Ziegl. Beitr.*, XXII.
Maurel, *Recherches expérimentales sur les leucocytes du sang*, *Congr. internat. de la tuberc.*, Paris, 1905, t. I, p. 185-190.
Metchnikoff, *Virch. Arch.*, XCVI, p. 177-195.
Neisser et Wechsberg, *Zeitschr. f. Hyg.*, XXXVI, p. 299-349.
Neufeld et Hune, *Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, XXV, p. 164-202.
Rogowitsch, *Ziegl. Beitr.*, IV, p. 291-312.
Rosenow, *Journ. of Inf. Dis.*, III, p. 683-700.
Ruffer, ces *Ann.*, V, p. 673-694.
Schattenfroh et Grassberger, *Ueber das Rauschbrandgift und ein antitoxisches Serum.*, Leipzig-Wien, 1904.
Todd, *Transact. of the Path. Soc.*, London, 1902.
Vaillard et Vincent, ces *Ann.*, V, p. 1-39.
Van de Velde, *Cellule X.*
Volk et Lipschutz, *Wien. klin. Woch.*, 1903, nº 50.
Weil et Nakayama, *Berl. kl. Woch.*, 1906, p. 70-72.
Wolff, *Berl. klin. Woch.*, 1902, nº 6.
Wright, *Proc. Roy. Soc.*

Conservation du bacille pesteux dans le corps des punaises[1].

Par V. JORDANSKY et N. KLADNITSKY

(Travail du laboratoire de bactériologie à Astrakan.)

L'étude scientifique de la transmission de la peste n'est devenue possible qu'après la découverte du microbe spécifique par Yersin. L'épidémie de peste qui, depuis 1896, ravage l'Inde, ainsi que les poussées qui ont eu lieu dans diverses contrées, ont été l'occasion de nombreuses recherches sur cette maladie. Grâce à elles, on sait que la peste ne se transmet pas par l'air du moins dans le cas de peste bubonique. que la maladie ne passe pas directement d'un pestiféré à un homme sain. L'extrême rareté des cas de peste sur les médecins et sur le personnel des hôpitaux dans l'Inde prouve bien qu'il en est ainsi.

Il est bien établi aujourd'hui que les épidémies de peste humaine sont précédées et accompagnées d'une grande mortalité sur les rats; la maladie sévit d'abord sur ces rongeurs qui la propagent. Mais comment la peste est-elle transportée du rat à l'homme? Les expériences si probantes faites dans ces dernières années ont prouvé que la transmission s'accomplit par l'intermédiaire d'insectes piqueurs.

Dès 1876, le défunt professeur Minet soutenait que les insectes jouent un rôle dans la diffusion des maladies contagieuses. Malgré les moqueries qui accueillirent cette assertion, il émit de nouveau, en 1892, l'opinion que le typhus exanthématique est propagé par des insectes. Tictine pense que ce mode de transmission est évident pour la fièvre récurrente.

En 1894, Yersin remarqua un grand nombre de mouches mortes dans le laboratoire où il pratiquait les autopsies des animaux pesteux, et il trouva des bacilles virulents dans les cadavres de ces insectes. Plus tard, M. Hunter constate, à l'hôpital de Hong-Kong, que sur 20 mouches de la salle d'autopsie, 15 renfermaient des bacilles pesteux. M. Nuttal dans

1. Communication faite à la Société des médecins d'Astrakan, 20 janvier 1907.

des expériences fort bien conduites a montré que les mouches infectées par le bacille pesteux mouraient plus vite et en plus grand nombre que les mouches de contrôle. Il a pu extraire du corps de ces insectes des bacilles pesteux virulents 24 à 48 heures après l'infection.

Il est possible que des mouches infectées aillent se poser sur la peau de l'homme et aussi souiller des aliments en laissant sur eux les bacilles pesteux contenus dans leurs déjections. Il pourrait en être ainsi des cafards, d'après M. Cao, car ils conservent, dans leur corps et dans leurs excréments, le bacille pesteux vivant pendant un certain temps. M. Hankin pense aussi que les fourmis qui, dans l'Inde, s'attaquent aux cadavres des rats morts de peste peuvent dans certains cas servir de véhicule au bacille pesteux. Cependant, la façon dont la peste s'étend ne permet pas d'attacher d'importance au rôle des mouches, des cafards (*periplaneta orientalis et phylodromiagermanica*) et des fourmis dans la diffusion de la maladie.

M. Simond a émis l'opinion que l'insecte transporteur du virus pesteux est la puce. Il a institué des expériences très ingénieuses pour démontrer que les puces sont les agents de transmission de la peste, du rat au rat et du rat à l'homme. MM. Galli-Valerio, Kolle, et d'autres auteurs ont combattu l'avis de Simond, il a cependant fini par triompher et les expériences publiées dans les divers rapports de la commission anglaise ne permettent pas de douter que les puces ne soient les propagateurs du virus pesteux. Toutes les espèces de puces trouvées sur le rat ne sont pas également aptes à remplir ce rôle; « pullex chéopis » est particulièrement redoutable parce qu'elle conserve longtemps le virus pesteux à l'état vivant dans son tube digestif et qu'elle pique volontiers l'homme.

La puce est-elle le seul insecte piqueur capable de transmettre la peste? Les poux et les punaises ne pourraient-ils dans certains cas remplir l'office de convoyeurs de virus? M. Nuttal s'est déjà préoccupé de ces questions et il a montré que les bacilles pesteux contenus dans le canal intestinal des punaises sont encore virulents après 72 heures, mais qu'au bout de cinq jours ils n'infectent plus les animaux auxquels on les inocule.

Selon M. Wierzbitsky les bacilles pesteux se trouvent dans le corps des puces et des punaises ayant piqué un animal pesteux

dans les 26 dernières heures de sa vie. Les bactéries pulluleraient chez les insectes qui ont sucé le sang et conserveraient leur virulence de 3 à 6 jours chez la puce. Chez les punaises peu affamées, les bacilles disparaîtraient le 3e jour; tandis que chez celles qui ont jeûné de 4 mois à 4 mois 1/2 avant la piqûre on les trouverait encore après 8 et 9 jours. Les puces pourraient transmettre la maladie par piqûre pendant les trois jours qui suivent leur infection et les punaises pendant cinq jours. La réaction au point piqué est faible ou même nulle.

Il se pourrait donc que, dans certains cas, la peste soit propagée par les punaises et nous avons décidé d'étudier expérimentalement la transmission de la peste aux souris par l'intermédiaire de ces insectes piqueurs.

Nous nous sommes servis de punaises de souris, puis de punaises de lit. Nous infectons une souris en lui inoculant sous la peau une culture de peste en bouillon [1]; habituellement dès le troisième jour, le sang, pris à la queue, contient des bacilles pesteux en assez grand nombre pour qu'on les distingue facilement sur des préparations colorées ou non. Alors, la souris est transportée dans un bocal propre avec des punaises pas trop affamées. Au bout de 2 à 3 heures toutes sont gorgées de sang. Elles piquent d'abord l'animal à la queue, quand il est mourant, elles le piquent aussi à la tête et aux pattes.

Lorsque la souris pesteuse a encore quelque vigueur, elle se débarrasse des punaises et les détruirait toutes si on n'avait pas soin de disposer dans la cage bocal quelques planchettes où les insectes puissent se réfugier. Les punaises craignent l'humidité et périssent dans l'urine : aussi pour réussir sûrement dans nos expériences, nous mettions les punaises à piquer sur la souris immobile en les surveillant constamment : quand elles étaient gorgées de sang, nous les transportions, au moyen d'une petite pince, dans un bocal propre et ne contenant que quelques morceaux de bois pour servir d'abri. Le bocal découvert est conservé à la température de la chambre.

Après la mort de la souris ainsi piquée par les insectes, on s'assurait qu'elle avait bien succombé à la peste.

En perçant le dos d'une punaise avec l'extrémité effilée

1. Nous employons une culture de peste provenant de l'épidémie de l'Oural en 1905, elle était de virulence faible, nous l'avons renforcée de façon qu'elle tue la souris blanche en 3, 4 jours à la dose de 0 c. c. 1 à 0 c. c. 2 sous la peau.

d'une pipette de verre stérilisée, on réussit à retirer de quoi faire des préparations et des ensemencements. Lorsque cela n'était pas possible, l'insecte était coupé en deux et on faisait des frottis de son contenu sur lames. Le corps de la punaise broyé avec précaution, dans un vase stérile avec de la solution physiologique, servait à préparer une émulsion utilisée pour les ensemensements et les inoculations. Des expériences préliminaires nous avaient montré qu'une semblable émulsion, préparée avec des punaises normales recueillies dans un asile, pouvait être injectée sans inconvénients sous la peau des souris.

Nos préparations étaient colorées d'après Berestnieff avec de la fuchsine phéniquée (fuchsine 1 0/0, eau phéniquée à 3 0/0, glycérine 40). Pour obtenir une bonne coloration polaire, fixer la préparation par la chaleur, verser dessus le bain colorant, laver presque aussitôt à l'alcool à 60° et rapidement passer dans l'eau. Les solutions de Giemsa et de Romanowsky donnent aussi de très belles préparations.

Expérience I. — Le 9 août 1906, une souris est inoculée sous la peau du dos avec une culture de peste en bouillon. Le 12, sur cette souris mourante, on place des punaises qui se remplissent de sang. Après la mort de la souris, on constate les lésions typiques de la peste. Les organes contiennent beaucoup de bacilles pesteux et fournissent des cultures pures de peste.

Punaise n° 1. — Broyée 20 heures après la piqûre de la souris, dans de l'eau physiologique, l'émulsion renferme un grand nombre de bacilles caractéristiques. Deux souris inoculées avec cette émulsion meurent de peste typique (œdème, bubons, grosse rate) l'une le 6e jour, l'autre le 10e jour. Leurs organes et leur sang montrent un grand nombre de bacilles pesteux.

Punaise n° 2. — 3 jours 1/2 après le repas infectieux, du sang retiré par piqûre du dos contient des bacilles pesteux, parfois très longs, se colorant métachromatiquement (Romanowsky). Il y a aussi des cocco-bacilles colorés aux deux extrémités. Les microbes sont rarement groupés en longues chaînes. Le sang a un aspect laqué. Une souris inoculée avec l'émulsion du corps de la punaise est morte en 2 jours 1/2. L'examen n'en a pas été fait.

Punaise n° 3. — Après 7 jours 1/2 il est impossible de retirer du sang de la punaise avec la pipette. Dans les frottis colorés, beaucoup de bacilles caractéristiques, quelques-uns longs. Ils ne se colorent pas par la méthode de Gram.

L'émulsion de la punaise est inoculée à deux souris. L'une meurt en trois jours, de peste caractéristique ; la seconde le 7e jour, elle est également pestiférée. Les cultures pures obtenues de l'émulsion ensemencée sur plaques sont typiques et donnent la peste aux souris.

Punaise n° 4. — 35 jours après le repas infectieux, elle est tout à fait maigre ; placée de nouveau sur une souris pesteuse, elle la pique. On la conserve pendant 10 jours, puis on la broie dans l'eau physiologique. Sur les préparations on ne peut distinguer de bacilles caractéristiques, mais l'ensemencement sur plaques permet d'isoler des colonies pures de peste qui tue une souris en 5 jours. L'émulsion de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 15 jours avec bubons, grosse rate, ses organes renfermant le bacille pesteux.

Donc, après 35 jours, le bacille pesteux existait encore à l'état vivant dans le corps de la punaise.

Expérience II. — Le 18 novembre 1906, une souris est inoculée sous la peau avec une culture de peste en bouillon. Le 22 elle est vivante encore, mais presque sans mouvement. Des punaises provenant d'une maison habitée sont introduites dans le bocal, après une heure elles sont plus ou moins gorgées de sang et la souris est morte. Son sang, ses organes sont remplis de bacilles pesteux.

Punaise n° 1. — 24 heures après le repas infectieux, on retire du sang de cette punaise au moyen d'une pipette effilée, il contient un grand nombre de cocco-bacilles caractéristiques et fournit une culture tuant la souris en trois jours.

L'émulsion préparée avec la coupe de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 2 jours 1/2 de peste caractéristique.

Punaise n° 2. — Utilisée le 4e jour après le repas infectieux. Sang retiré à la pipette — grande quantité de bacilles pesteux. Emulsion du corps de la punaise — tue une souris en 6 jours avec des lésions pesteuses caractéristiques. Du sang on obtient une culture pure.

Punaise n° 3. — Utilisée après 5 jours. Sang retiré à la pipette — beaucoup de bacilles pesteux, formes d'involution, il donne culture mixte de peste et de cocci. L'émulsion du corps de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 2 jours, peste caractéristique confirmée par la culture.

Punaise n° 4. — Dans un peu de sang épais retiré à la pipette le 7e jour, on distingue encore des globules rouges. Quelques bacilles ayant l'apparence de microbes pesteux, dont la plupart présentent des formes d'involution. Ce sang fournit une culture mixte de bacilles pesteux et de cocci. Cette culture impure inoculée à une souris la tue en 3 jours avec tous les caractères de la peste.

L'émulsion du corps de la punaise fait périr une souris en 3 jours 1/2. Les organes et le sang contiennent une énorme quantité de bacilles pesteux.

Punaise n° 5. — Morte le 9e jour. Sur les préparations de son contenu, bacilles polymorphes, bâtonnets longs et minces, rares chaînettes, bacilles se colorant comme celui de la peste. Il fournit une culture mixte de bacilles et de cocci tuant une souris en 74 heures, avec des bubons contenant des cocco-bacilles pesteux.

L'émulsion du corps de la punaise fait périr une souris avec les lésions pesteuses habituelles et beaucoup de cocco-bacilles dans le sang et les organes, d'où on obtient une culture pesteuse pure.

Punaise n° 6. — Broyée après 12 jours, dans un peu d'eau physiologique. Les préparations de l'émulsion montrent des bacilles assez gros et pas de microbes de la peste reconnaissables. On distingue à peine la structure des globules du sang. De cette émulsion on obtient une culture de petits bacilles prenant la couleur dans toute leur étendue et inoffensifs pour la souris.

L'émulsion est inoculée directement à une souris. Celle-ci est bien portante 30 jours après. Sacrifiée, elle ne présente aucune lésion. L'ensemencement de ses organes est stérile.

Expérience III. — Le 18 novembre 1906 une souris est inoculée sous la peau avec une culture de bacilles pesteux. Le 22, la souris est malade et dans le sang, coloré d'après Romanowsky, on ne voit aucun bacille, sur des préparations fraîches on en trouve quelques-uns isolés à côté de plaquettes. La souris est mise dans un bocal avec des punaises non affamées; celles-ci sont retirées au bout d'une heure et demie, rassasiées de sang.

Le 24 novembre la souris est morte, environ 35 heures après avoir été piquée par les punaises.

Punaise n° 1. — Le sang puisé à la pipette dans le corps de la punaise 48 heures après le repas montre des globules rouges et pas de bacilles. Ensemencé, il ne donne pas de culture. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée à une souris, celle-ci meurt le 20e jour; les ganglions sont un peu gros, la rate augmentée de volume, mais on n'y trouve de bacilles pesteux ni à l'examen microscopique ni à l'ensemencement.

Punaise n° 2. — Dans le sang retiré à la pipette on ne distingue ni globules de sang ni bacilles. L'ensemencement ne donne pas de culture. Une souris inoculée avec l'émulsion du corps de la punaise meurt en 20 heures, avec de l'œdème du tissu cellulaire des ganglions et une rate un peu grosse. Pas de bacilles visibles sur les frottis d'organe. Le sang du cœur et la pulpe du foie sont stériles.

Punaise n° 3. — Broyée après 6 jours; pas de bacilles sur les frottis. L'émulsion ensemencée ne donne pas de culture. Une souris inoculée avec l'émulsion périt, amaigrie, le 16e jour, sans contenir de microbes et en présentant de l'augmentation du volume de la rate et des ganglions.

Punaise n° 4. — Sang puisé à la pipette le 8e jour après le repas; sur les préparations pas de globules distincts, pas de bacilles pesteux. L'ensemencement fournit des cultures de bacilles non pesteux et de cocci. Cette culture mixte est inoffensive pour la souris. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée à une souris, elle meurt le second jour avec des convulsions et de la paralysie des extrémités. A l'autopsie, ganglions et rate augmentés de volume, ne contenant pas de microbes.

Punaise n° 5. — Les frottis faits le 10e jour ne montrent pas de bacilles dans le corps de la punaise, l'ensemencement donne une culture de cocci inoffensifs. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée sans résultat sous la peau d'une souris.

Expérience IV. — Une punaise à jeun (de la première série) pique une souris pesteuse, au bout de 35 jours on lui fait sucer le sang d'une souris saine. Dix jours après, dans des préparations du sang retiré du corps de la punaise à la pipette, pas de bacille, des formes indécises de cocci. L'ense-

mencement donne une culture de peste peu typique. Cette culture est inoculée à une souris, celle-ci meurt le 47e jour; à l'autopsie petits bubons, grosse rate, les frottis des organes montrent par place des cocco-bacilles semblables à celui de la peste. Du sang on obtient une culture pure de peste.

Il résulte de nos expériences que les punaises qui se sont nourries de sang de souris pesteuses, n'en paraissent pas du tout incommodées, puisque nous avons pu les conserver vivantes jusqu'à 2 mois 1/2 après le repas de sang infecté.

Le bacille pesteux reste vivant et virulent dans le corps de la punaise; il ne paraît pas pulluler dans le tube digestif jusqu'au 3e jour, car le sang que l'on retire à ce moment de la punaise n'est pas plus riche en bacilles pesteux que le sang de la souris piquée. Mais du 3e au 6e jour les cocco-bacilles deviennent plus nombreux, les préparations donnent l'impression d'une culture assez riche et pure. Vers le 8e ou le 10e jour les bacilles se modifient, les formes d'involution apparaissent; on remarque alors des filaments minces ne prenant plus la coloration polaire, en même temps se montrent des cocci. La disparition des formes caractéristiques du cocco-bacille pesteux coïncide avec le changement d'aspect des globules, sans doute sous l'action des sucs digestifs. Plus tard, sur les préparations du contenu de la punaise, on ne distingue plus le microbe de la peste et pour le mettre en évidence il faut avoir recours à la culture. Les émulsions des corps de punaises sont virulentes, surtout celles préparées du 6e au 8e jour après le repas infecté, c'est en effet à cette période que le développement des bacilles dans le tube digestif paraît le plus abondant.

Après les résultats que nous avons exposés, nous ne nous expliquons pas comment, dans les expériences de M. Nuttal, une souris inoculée avec le contenu de 4 punaises 24 heures après le repas infecté, soit restée vivante. Nous ne pouvons nous ranger à son opinion à savoir : que les germes pesteux périssent rapidement dans le corps des punaises. Pour nous, au contraire, ils y pullulent d'abord, puis s'y conservent assez longtemps.

Notre quatrième expérience prouve bien qu'il en est ainsi, puisque chez une souris qui s'était nourrie de sang pesteux 35 jours auparavant, il existait encore des germes vivants. En

effet, après un nouveau repas sur une souris saine, on obtient avec cette punaise une culture qui tue une souris de peste chronique.

Dans l'expérience n° III, la souris inoculée avec l'émulsion des punaises qui se sont nourries sur une souris pesteuse 35 heures avant sa mort, ont succombé sans contenir de cocco-bacilles de la peste. L'explication de leur mort est difficile à donner, cependant elles n'ont pas péri accidentellement, elles ont toutes présenté des signes d'intoxication nerveuse.

Les punaises qui viennent de sucer le sang d'une souris pestiférée peuvent-elles communiquer la maladie à une souris saine par piqûre ? Des punaises incomplètement gavées sur une souris pesteuse ont été transportées sur des souris saines sans que celles-ci en éprouvent de dommage. Sacrifiées au bout de quelques jours, elles ne contenaient point de microbes pesteux. D'après ce que nous savons de la pullulation des bacilles pesteux dans le corps de la punaise du 5e au 8e jour, il aurait sans doute mieux valu faire l'expérience avec des punaises dans ces conditions.

L'échec de ces essais ne doit cependant pas nous faire conclure que la punaise ne joue aucun rôle dans la propagation de la peste. On conçoit, en effet, que si le bacille pesteux se conserve dans le tube digestif de la punaise, il puisse arriver que celle-ci, écrasée sur place après qu'elle a piqué, puisse communiquer la maladie. D'ailleurs, MM. Calmette et Salimbeni, à Oporto, ont noté la présence de phlyctènes pesteuses au niveau de piqûres de punaises. Sans attribuer à ces insectes un rôle aussi important pour la diffusion de la peste que celui des puces, nous pensons que dans certaines circonstances, cette affection peut être communiquée à l'homme par les punaises et que dans les maisons pestiférées il sera utile de poursuivre leur destruction.

Comme conclusions à ce travail nous dirons :

Que le cocco-bacille de la peste se conserve avec sa virulence dans le corps des punaises pendant 10 jours et plus.

Que cette circonstance permet de croire que la punaise est, dans certains cas peut-être, un agent de transmission de la maladie.

Contribution à l'étude des causes d'insuccès du traitement antirabique.

PAR M. LE Dr PAMPOUKIS

(Directeur de l'Institut antirabique d'Athènes.)

De 1901 à la fin de 1905, nous avons traité à notre Institut 2,346 personnes ; parmi elles, 5 sont mortes de rage plus de 15 jours après la fin du traitement ; la mortalité a donc été de 0,21 0/0 pendant cette période quinquennale.

Depuis la fondation de l'Institut, en août 1894, jusqu'à la fin de l'année 1905, 4,524 personnes ont été traitées, 11 ont succombé plus de 15 jours après avoir subi le traitement ; la mortalité générale rectifiée est donc de 0,24 0/0.

La maladie s'est déclarée à des moments divers, dans les 4 mois qui suivent les inoculations antirabiques.

C'est un fait déjà signalé qu'un refroidissement brusque favorise l'apparition de la rage chez les personnes mordues par des animaux enragés.

Voici quelques faits à l'appui de cette opinion.

I. N. K., paysan, âgé de 24 ans, mordu le 12 juillet 1895 à l'avant-bras, est traité du 26 juillet au 14 août. Le 3 septembre, il traverse une rivière. Le lendemain la rage se déclare.

II. S. S. Traité pour une morsure de chien enragé, du 13 mars au 20 avril, se met à prendre des douches froides à partir du 9 mai, le 13 il est atteint de rage.

III. D. K., âgé de 30 ans, mordu le 18 mars 1904, traité du 23 mars au 16 avril, est fortement mouillé le 8 juin. Le lendemain la rage se déclare.

IV. N. K., âgé de 24 ans, mordu le 8 février 1905, est traité du 16 février au 12 mars. Le 17, il entre dans un bassin plein d'eau, le 19 il est trempé par la pluie ; le 20 mars il présente les symptômes de la rage.

V. Z., enfant de 13 ans, est mordu au visage le 11 mars 1905 ; il est mis en traitement le 15 mars. Le 30 il s'endort en plein air et reste exposé au froid jusqu'à 10 heures du soir. Le lendemain la rage se déclare.

L'abus de l'alcool nous a paru aussi faciliter l'éclosion de la rage. Chez 2 personnes traitées par nous, la maladie s'est montrée après qu'elles s'étaient enivrées.

Pour éviter les rares insuccès du traitement Pastorien préventif de la rage, nous nous proposons de généraliser l'emploi des mélanges de sérum antirabique et de virus fixe.

Nous pensons aussi que les personnes traitées doivent, pendant les trois mois qui suivent les inoculations, éviter les refroidissements et les écarts de régime.

Enfin, pour éviter les traitements tardifs, il serait fort utile que les autorités prennent des mesures pour que les personnes pauvres soient dirigées, sans perte de temps, sur un institut antirabique. En Grèce, où nous ne disposons pas d'établissement pour hospitaliser les personnes traitées, il faudrait leur assurer un logement convenable et une nourriture substantielle pendant le traitement et pendant les quelques semaines qui suivent.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE JUIN 1908. No 6

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

DE L'ANAPHYLAXIE ET DES TOXOGÉNINES

PAR M. CHARLES RICHET

Les expériences dont je vais donner ici la relation ont été entreprises avec une substance toxique très voisine de la mytilo-congestine étudiée dans un précédent mémoire [1].

Outre la confirmation de ce que j'avais démontré précédemment, j'ai pu établir quelques faits nouveaux, surtout par rapport à l'action du sérum, à la période d'incubation, aux propriétés de la toxogénine, de manière à ajouter quelques données à l'histoire de l'anaphylaxie [2].

I

PRÉPARATION DE L'ACTINO-CONGESTINE.

Les actinies, ou orties de mer, ou anémones, sont des

1. De l'anaphylaxie en général et de l'anaphylaxie par la mytilo-congestine en particulier, *Ann. de l'Institut Pasteur*, XXI, 1907, 497-524.

2. Depuis la publication de mon précédent mémoire il a paru divers travaux qui portent en général sur les conséquences pratiques de l'anaphylaxie pour la préparation du sérum antitoxique. Notamment les physiologistes américains ont fait l'étude détaillée de ces conditions, non sans prétendre, un peu naïvement, avoir découvert le principe de l'anaphylaxie, comme par exemple P.-A. LEWIS en 1903 (?), encore que sa première publication ne date que de 1908. (The induced susceptibility of the Guinea pig to the toxic action of the blood serum of the horse, *Journal of exp. Medicine*, 1908, X, 1-29). De même aussi ROSENAU et ANDERSON (*passim*). Voir aussi GAY et SOUTHARD, *Journ. of med. Research*, 1907, XI, 143. VAUGHAN et WHEELER. *Journ. of infectious diseases*, 1907, IV, 476). Il est évident qu'en 1907 l'anaphylaxie n'avait pas besoin d'être découverte. Au point de vue médical il faut citer les intéressants travaux de MARFAN et de ses élèves (H. LEMAIRE, *Rech. clin. et expér. sur les accidents sérotoxiques*. Th. de Paris, 1906, et *Revue prat. des mal. de l'enfance*, oct.-nov. 1907.) Mais je ne puis donner ici toute la bibliographie de l'anaphylaxie, car, depuis mes recherches de 1902, qui ont ouvert la voie à ARTHUS, ainsi qu'à PIRQUET et SCHICK et à TH. SMITH, le problème de l'anaphylaxie est devenu très complexe, revêtant les formes les plus diverses, s'étendant à des questions multiples, aussi importantes en pathologie qu'en physiologie.

Mes recherches ont été faites au laboratoire expérimental de la Faculté de médecine de Paris (boulevard Brune).

Cœlentérés marins qui vivent fixés sur les rochers de faible profondeur. Ces animaux sont constitués par un corps, fixé au rocher, et une cavité gastro-intestinale n'ayant qu'un orifice bucco-anal. La paroi cavitaire est pourvue de glandes digestives, et l'orifice est muni de tentacules.

Ces tentacules sont toujours rétractiles, ou plutôt contractiles, mais ils ne le sont pas au même degré. Les actinies qui ont servi à mes expériences étaient presque toujours l'*Actinia equina* et l'*Anemonia* (*Anthea*) *cereus*, à pédoncules peu rétractiles. Elles provenaient tantôt de la Méditerranée (Carqueiranne), tantôt de la Manche (Roscoff). D'ailleurs, quoique je n'aie pas expérimenté avec d'autres actinies, il est probable que les diverses espèces, qui sont très voisines, ont les mêmes propriétés toxiques.

Il ne m'a pas paru qu'il y ait des différences, suivant les saisons, dans la toxicité des actinies.

Les parties contenant les éléments toxiques sont les tentacules. Ces tentacules sont pourvus de cellules urticantes, ou *nématoblastes*, que je n'ai pas à décrire ici. (Y. Delage. *Traité de zoologie concrète*, II, (2), 6-14). Essentiellement, le nématoblaste est formé d'un pédoncule portant un nématocyste, ou vésicule urticante, composé lui-même de deux parties : la capsule et le filament urticant enroulé dans la capsule ; il y a encore extérieurement un *cil*, annexé à la capsule (*cnidocil*), qui transmet l'excitation périphérique et provoque l'explosion de l'appareil urticant, sans doute muni de liquide.

Aussi, selon toute vraisemblance, les substances toxiques que j'ai extraites du corps des actinies sont-elles le contenu de ces nématoblastes.

Pour préparer l'actino-congestine voici comment il a été procédé. Les tentacules des actinies, coupés au ras avec des ciseaux, étaient aussitôt plongés dans une solution de fluorure de sodium à 3 0/0, additionnée d'un excès de fluorure de sodium. Dans des flacons de deux litres on mettait 1,000 grammes de la solution de fluorure de sodium et 1,000 grammes de tentacules d'actinies. Puis les flacons, bouchés à l'émeri, et additionnés d'un peu de chloroforme et de benzine, étaient envoyés à mon laboratoire. Le liquide était filtré, et le résidu, agité et broyé avec du sable et de l'eau contenant 3 0/0 de fluorure de sodium,

était centrifugé. La partie liquide était filtrée aussi, et ajoutée au liquide primitif.

La filtration est longue et pénible. Il faut 8 à 10 jours pour qu'elle s'achève. Aussi, pour empêcher toute altération microbienne, convient-il d'ajouter à la solution de fluorure de sodium un mélange de chloroforme et de benzine, 1 partie de chloroforme pour 4 parties de benzine. Ce mélange est de même densité que l'eau, et l'émulsion, dans un liquide visqueux, en persiste assez longtemps. Alors, sur papier Chardin, on finit par obtenir un liquide limpide ; mais on est forcé de renouveler les filtres tous les deux jours.

Le liquide est alors précipité par l'alcool à 95° : 3 volumes d'alcool pour 1 volume de liquide. Le précipité, très abondant, se dépose au bout d'une heure ou deux. On décante, on recueille le précipité qu'on dessèche entre des doubles de papier Joseph, et on reprend par l'eau, additionnée de 2 grammes de carbonate de soude par litre. Une partie seulement des albumines précipitées par l'alcool se dissout; on filtre — et là encore la filtration est très lente — et le liquide filtré est de nouveau précipité par 3 volumes d'alcool. C'est ce précipité qui constitue l'actino-congestine. On peut le purifier par une nouvelle dissolution dans l'eau, et une nouvelle précipitation par l'alcool.

A vrai dire, cette congestine contient des proportions considérables de fluorure de sodium, à peu près 50 0/0, car le fluorure de sodium, soluble dans l'eau, se précipite par l'alcool avec la congestine. Aussi, dans quelques préparations, ai-je employé un autre procédé que la conservation par le fluorure de sodium : la conservation par la glycérine. Le précipité par l'alcool est alors traité exactement de la même manière, redissous dans l'eau et de nouveau précipité par l'alcool.

Les expériences que je rapporte dans ce mémoire ont été toutes faites avec l'actino-congestine préparée par le fluorure de sodium. Le précipité alcoolique, desséché dans le vide en présence d'acide sulfurique, est réduit en poudre, de manière à former une substance pulvérulente absolument homogène et inaltérable.

Je préparais immédiatement la solution en dissolvant une quantité déterminée de cette poudre dans de l'eau, dans la proportion constante de 0,5 0/0. Toute la poudre se redissout faci-

lement, mais pourtant je prenais soin de filtrer pour avoir une liqueur très limpide. Après filtration elle est très fortement dichroïque. (Il n'existe pas à ma connaissance d'autre substance dichroïque parmi les produits animaux.)

L'injection était faite dans les veines sur des chiens, avec une lenteur convenable, environ 1 c. c. par deux minutes (au moins au début).

Les poids de congestine que j'indique ici sont des centigrammes, et ils se rapportent toujours à 1 kilogramme de poids vif de l'animal.

D'une manière générale on peut dire que la dose toxique et que les effets toxiques sont très voisins de la dose toxique et des effets toxiques de la mytilo-congestine. De sorte que je crois pouvoir appeler du nom générique de *congestine* ces substances toxiques, précipitées par l'alcool, mais se redissolvant dans l'eau après précipitation par l'alcool. Elles sont partiellement détruites par la chaleur, précipitent par les acides minéraux et ne dialysent pas.

Voici quelques chiffres relatifs à la teneur en matières minérales et en azote.

I. — $0^{gr},217$ contiennent $0^{gr},121$ de matières organiques et $0^{gr},096$ de matières minérales.

II. — $0^{gr},125$ contiennent $0^{gr},075$ de matières organiques et $0^{gr},050$ de matières minérales.

III. — $0^{gr},315$ contiennent $0^{gr},187$ de matières organiques et $0^{gr},128$ de matières minérales.

Soit : 0/0 :

	I	II	III
Matières organiques	56	60	60
Matières minérales	44	40	40

On peut donc admettre une proportion d'environ 42 0/0 de matière minérale. Sans doute le fluorure de sodium y est en grand excès, représentant peut-être 30 0/0. La solution injectée à 5 0/00 est donc une solution à $1^{gr},5$ de fluorure de sodium p. 0/00, c'est-à-dire très peu offensive.

La congestine préparée par la glycérine m'a donné 11,4 0/0 de matières minérales.

Le dosage de l'azote m'a donné 5,6 d'azote p. 0/0.

Or, comme la proportion des matières organiques est de 56 0/0, il s'ensuit que la congestine contient 10 0/0 d'azote, ce qui l'éloigne notablement des matières albuminoïdes. Mais pour conclure il faudrait de plus grandes quantités de substance et encore une série de purifications.

II

EFFETS TOXIQUES GÉNÉRAUX DE L'ACTINO-CONGESTINE.

Les effets de l'actino-congestine injectée dans les veines d'un chien normal ressemblent étonnamment aux effets de la mytilo-congestine.

Les premières injections provoquent une énergique défense. Le chien se débat, crie, s'agite frénétiquement. Puis, si l'injection continue, il se calme, s'engourdit même, comme si on lui avait injecté une substance hypnotisante (hypnotoxine). Quand on le détache, il ne paraît pas malade, ou à peine. Mais, à peine est-il libre, qu'il est pris de diarrhée, et d'une diarrhée intense, avec selles sanglantes et ténesme rectal très prolongé. Il se tient courbé en deux, comme s'il ressentait de violentes coliques. Quelques heures après l'injection, ces douleurs et cet abattement ont disparu. Pourtant l'animal reste triste et engourdi.

Le vomissement est bien plus rare (chez les chiens normaux) par l'actino-congestine que par la mytilo-congestine.

Ce qui domine quand la dose injectée a été forte, c'est l'hypothermie. Elle se produit d'emblée quand la dose est très forte; elle ne survient parfois, pour des doses moyennes, qu'aux troisième et quatrième jour. Je ne crois pas qu'avec d'autres poisons on puisse observer un pareil abaissement thermique.

La mort, quand la dose dépasse environ 8 centigr. par kilog. est fatale. Mais elle ne survient que tardivement, tout au plus 3 jours après l'injection. Je ne connais pas d'exemple, chez un chien non anaphylactisé, d'une mort immédiate.

Autrement dit, même à dose très forte, les accidents (sauf la diarrhée et la torpeur) surviennent lentement. Le fait est

extrêmement important à noter, car il en est tout autrement chez les chiens anaphylactisés.

Je n'ai guère essayé de voie d'introduction de la substance toxique autre que la voie veineuse. Dans le canal rachidien, la toxicité ne m'a pas paru plus grande. Mais je n'ai que peu d'expériences à cet effet.

L'ingestion alimentaire est inoffensive ; et, d'ailleurs, je ne disposais pas d'une assez grande quantité de substance pour essayer ce procédé d'intoxication.

Voici d'abord la longue liste des expériences entreprises sur des chiens normaux pour déterminer la dose toxique :

I

NOM DE L'ANIMAL	POIDS EN KILOG.	Dose d'actino-congestine en centigrammes par kilog.	Survit ou meurt en combien d'heures ? [1]
Pollux	5.5	9.1	M. 92
Heliodora	7.5	8.7	M. 92
Hippocrate	10.3	8.2	M. 120
Alcide	9.6	7.8	M. 44
Proserpine	8.0	7.8	Survie.
Parménide	8.7	5.75	—
Porphyre	11.0	5.5	—
Protagoras	8.4	5.4	—
Hippolyte	14.4	5.2	—
Minos	9.5	4.8	—
Lycidas	10.2	4.5	M. 132
Euloge	7.3	4.5	M. 110
Eudore	13.9	4.2	Survie.
Strabon	6.2	4.2	M. 432
Thalessa	12.1	4.1	Survie.
Amphitryon	11.9	4.0	—
Péléas	9.2	4.0	M. 68
Socrate	10.3	3.6	Survie.
Teucer	7.4	3.5	—
Clitus	9.9	3.5	—
Irénée	10.1	3.5	—
Midas	8.0	3.1	—
Pygmalion	11.2	3.1	—
Thrasymaque	10.8	2.3	—
Sapho	103.	2.2	—
Andromède	11.5	2.2	Survie.
Épictète	7.1	1.8	—
Actéon	16.0	1.5	—
Thersite	16.8	1.5	—
Thésée	17.5	1.3	—
Tertullia	8.3	1.0	M. 168
Perséphone	13.0	1.0	M. 336
Astyanax	8.	1.	Survie.
Styx	24.0	0.50	—

1. En général, l'injection était faite vers 3 heures de l'après-midi. Quand la mort survient dans la nuit, nous supposons qu'elle est survenue 12 heures après l'injection.

A ces 34 chiens, j'en ajouterai 3 autres qui avaient reçu, quelques jours ou quelques heures auparavant, dans le système veineux, du sérum dechien normal.

NOM DE L'ANIMAL	POIDS EN KILOS.	Dose d'actino-congestine en centigrammes par kilog.	Survie ou meurt en combien d'heures ?
Rhadamante..................	9.5	4.05	Survie.
Chrysostoma.................	11.9	4.10	—
Thraséasa...................	11.7	4.40	—

L'expérience m'ayant prouvé — ce qui d'ailleurs était bien vraisemblable — qu'ils sont assimilables à des chiens normaux, je les confondrai avec les chiens normaux.

Tout de suite, en étudiant ces tableaux, on voit que *Tertullia* et *Perséphone* ont succombé après l'ingestion d'une dose très faible.

Mais, si *Tertullia* et *Perséphone*, (comme aussi *Lycidas*), sont mortes malgré la faiblesse de la dose injectée, c'est que la solution d'actino-congestine, au lieu d'être immédiatement injectée, après que la dissolution du poison avait été faite, a été injectée plusieurs jours après la dissolution.

Je reviendrai plus loin sur cette expérience importante.

En éliminant *Tertullia*, *Perséphone* et *Lycidas*, on voit que la dose toxique est voisine de 7cgr,8, puisque au-dessus de cette dose tous les chiens ont péri, qu'à cette dose *Proserpine* a survécu, et *Alcide* est mort. Au-dessous de 7cgr,8, il y a toujours eu survie, sauf trois exceptions (*Euloge*, *Strabon*, et *Péléas*). Encore *Strabon* n'est-il mort que le 18e jour, et peut-on considérer cette mort comme accidentelle.

De fait, nous pouvons très légitimement considérer la dose de 7cgr,5, en chiffres ronds, comme la dose limite.

Je ferai ici remarquer la parfaite identité entre cette dose toxique et la dose toxique de la mytilo-congestine, pour laquelle j'avais adopté (*loc. cit.*, p. 509) la dose toxique de 7cgr,5.

Avec une nouvelle actino-congestine préparée par la glycérine, et ne contenant, que 11 0/0 de matières minérales, j'ai trouvé une dose toxique voisine de 3cgr,5. Or ce chiffre de 3cgr,5 res-

semble beaucoup au chiffre de matières organiques contenues dans 7^{cgr},5 (c'est-à-dire 58 $^{0}/_{0}$) soit 4^{cgr},25. Il semble donc assez rationnel d'admettre le chiffre de 0^{gr},03 par kilogramme, pour la dose toxique de l'actino-congestine, dépourvue de matières minérales, et 0^{gr},075 pour l'actino-congestine des expériences que je rapporte ici.

Chez les chiens anaphylactisés la dose toxique est absolument différente. Voici le tableau résumant ces longues expériences :

Noms	Jours d'intervalle[1]	1re dose	2e dose	Sort de l'animal	1re et 2e dose
Styx..............	11	0.5	1.0	Survit	1.5
Parménide........	12	5.75	1.1	Survit	6.85
Eucrate...........	12	3.6	3.4	M. 12 h.	7.0
Pygmalion........	15	3.1	1.2	M. 28	4.3
Midas............	16	3 1	1.1	Survit	4.2
Hippolyte.........	18	5.2	1.0	Survit	6.2
Thésée...........	18	1.3	1.0	M. 16	2.3
Sapho	23	2.2	1.0	Survit	3.2
Amphitryon	28	4.0	1.0	M. 22	5.0
Thersite..........	35	1.5	0.55	M. 12	2.05
Proserpine	35	7.8	1.05	M. 12	8.85
Epietète..........	44	1.8	3.1	M. 12	4.9
Rhadamante......	45	4.05	1.0	M. 12	5.05
Clitus	50	3.5	1.0	M. 216	4.5
Irénée	56	3.5	1.2	M. 12	4.7
Thrasymaque	62	2.3	0.25	Survit	2.55
Eudore	76	4.2	4.5	M. 12	8.7
Thalessa..........	89	4.1	1.55	Survit	5 55
Protagoras..... .	106	5.4	1.2	Survit	6.6
Minos	130	4.8	1.7	Survit	6.5
Porphyre.........	135	5.5	0.9	M en 15[1]	6.4

1. Par une exception digne d'être notée, *Porphyre* est mort en 15 minutes, après l'injection de la dose très faible de 0 gr. 009 par kilog. L'anaphylaxie datait de 135 jours (du 23 décembre 1907 au 7 mai 1908).

De ce tableau résultent diverses remarques importantes à développer :

1° La mort ne peut être attribuée à une accumulation des doses. En effet, même en supposant qu'au bout de 20 à 26 jours pas une parcelle de la substance toxique n'a été éliminée, ce qui est absurde, on arrive à une dose totale, cumulative, insuffisante pour produire la mort.

Par exemple, au 56e jour, *Irénée* est mort en 12 heures, pour une dose totale de 4cgr,7. Au 35e jour, *Thersite* est mort en 12 heures pour une dose totale de 2cgr,05. *Thésée* est mort en 12 heures pour une dose totale de 2cgr,3.

Donc l'hypothèse de l'accumulation est impossible à défendre.

2° La dose mortelle pour les chiens anaphylactisés peut être très faible. Par exemple, en comparant *Thersite* et *Proserpine*, on voit que *Thersite* est mort en 12 heures après injection de 0cgr,55, tandis que *Proserpine* a survécu à la dose de 7cgr,8, c'est-à-dire une dose quatorze fois plus forte! *Porphyre* est mort en un quart d'heure après l'injection d'une dose qui n'est que le dixième de la dose mortelle.

En laissant de côté le cas, peut être exceptionnel, de *Thersite*, on voit que du 28e au 56e jour, sur 6 chiens ayant reçu la dose de 1 centigramme, il y a eu 6 morts, et morts rapides, en moins de 12 heures. Nous avons vu plus haut que jamais, même à une dose très forte (de 0gr,09 pour *Pollux*), il n'y a une mort aussi rapide chez les chiens normaux.

On sera donc plutôt en deçà de la limite qu'au delà en disant que l'anaphylaxie rend les organismes dix fois plus sensibles qu'ils n'étaient précédemment.

3° On voit apparaître nettement, par l'inspection de ce tableau, qu'il y a une période d'incubation et une période de déclin pour l'anaphylaxie.

En effet, en ne prenant que les doses de 1 et de 1,2, et en laissant les cas où la dose injectée après anaphylaxie a été inférieure ou supérieure (*Eucrate* : 3.4. — *Eudore* : 4.5 — *Thrasymaque* : 0.25) on a le tableau suivant :

	Survivants.	Morts.	Mortalité 0/0
Du 11e au 23e jour...........	5	2	29
Du 28e au 56e jour...........	0	6	100
Du 89e au 135e jour...........	3	1	25

De là on peut inférer que le maximum de l'anaphylaxie est vers le 45e jour. Nous avions vu que pour la mytilo-congestine, vers le 50e jour, l'anaphylaxie avait complètement disparu et qu'elle s'affaiblissait à partir du 30e jour. Il est probable que pour les diverses substances anaphylactisantes il y a des périodes d'incubation et de déclin qui sont très variables.

4° Revenons un peu sur ce fait que l'injection d'une dose très faible au 30e jour provoque des accidents immédiats et formidables.

Il prouve en toute évidence ceci, sur quoi on n'a pas encore, que je sache, insisté : c'est qu'*il n'y a plus trace du poison primitif* dans l'organisme de l'animal anaphylactisé.

En effet, puisque une dose très faible, d'un milligramme, chez l'animal anaphylactisé provoque aussitôt le vomissement et la paraplégie, c'est que cet animal n'avait plus dans son organisme même un milligramme du poison.

Mais le phénomène est plus compliqué encore : car à aucun moment, quand l'animal se porte bien, il ne peut y avoir *simultanément* de toxogénine et de toxine. Donc la toxogénine n'est pas un produit immédiat de transformation de la congestine. Il y a un moment où il n'existe plus de toxine, et où il n'y a pas encore de toxogénine : toutes ces mutations se passent pendant les quinze jours d'incubation.

Donc, tant qu'il y a encore du poison dans l'organisme, et un peu de temps après que ce poison a disparu, il n'y a ni toxogénine, ni anaphylaxie. Dans le sang le poison disparaît peu à peu. Or quand il a disparu, *mais seulement quand il a disparu*, il est remplacé par une autre substance, inoffensive en soi, mais qui devient offensive quand on la met en contact du poison primitif; une *toxogénine*, qui engendre par réaction avec la toxine injectée une toxine différente plus active, une apotoxine.

En schématisant nous avons la succession suivante, un peu hypothétique, des phénomènes :

1° Toxine injectée dans le sang;

2° Toxine disparaissant peu à peu ;

3° Après que la toxine a disparu, production d'une toxogénine ;

4° Toxogénine disparaissant à son tour et remplacée par une antitoxine.

A vrai dire, je n'ai pas pu observer encore la formation de cette antitoxine avec l'actino-congestine ; mais avec la mytilo-congestine l'immunité, très incomplète d'ailleurs, est arrivée au 50e jour.

Le phénomène essentiel de l'anaphylaxie est donc le suivant :

Après injection à un chien normal d'une dose même très forte, les symptômes immédiats d'intoxication sont nuls. Un quart d'heure après l'injection, il y a diarrhée, coliques, ténesme rectal, mais c'est tout pendant douze à vingt quatre heures.

Après injection à un chien anaphylactisé d'une dose même très faible, les symptômes d'intoxication sont foudroyants, immédiats et graves. Il suffit de quelques secondes pour voir apparaître le vomissement, la dyspnée, la stupeur, la paraplégie, l'insensibilité complète.

Pour bien établir cette différence par un exemple, je citerai l'expérience suivante (faite devant MM. Marfan, Ed. Lesné, Lemaire, Le Play, etc.).

Le 4 avril on injecte à *Hippocrate* (10k,300), de 5 heures à 5h,10, la quantité très considérable de 170 c. c. de la solution à 5 0/00, soit 0gr,85 d'actino-congestine, soit 0gr,083 par kil. Nul phénomène. Il n'y a même pas de diarrhée. Le chien, détaché, regagne alertement et gaiement sa niche. A 6 heures, il est triste, a un peu d'écume à la gueule ; mais en somme il n'est pas très malade.

(Le lendemain il est bien portant, et sa température est de 38°,5.)

Le même jour, à 3 h. 52, on injecte à *Irénée* (10k,100), injecté 56 jours auparavant, 2 c. c. de la même solution, soit 0gr,001 par kil. *Aussitôt* il fait des efforts de vomissement et a du ténesme rectal. On injecte à 3 h. 54 encore 2 c. c. soit encore 0gr,001 par kil. Alors *Irénée* paraît très malade. On le détache. Il ne peut

plus se tenir debout. Il ne réagit pas quand on lui pince fortement les pattes. Cécité psychique. Respiration profonde et laborieuse. Efforts de défécation. Les yeux sont hagards. Il ne paraît pas voir ce qui est autour de lui.

On injecte encore 0gr,01 de substance, ce qui ne change pas son état.

A 6 heures il se relève péniblement et peut à peine se tenir debout.

Il meurt dans la nuit.

Ainsi, le caractère de l'anaphylaxie est de déterminer des accidents *immédiats, foudroyants*, alors que des doses cent fois plus fortes ne pourraient pas produire le même effet sur un chien normal.

Donc on est amené à conclure formellement ceci : c'est que le *poison qui détermine ces accidents foudroyants n'est pas la congestine*. En outre, ce *poison n'existe pas dans le sang*, puisque les animaux anaphylactisés ne sont pas malades.

Donc c'est un poison nouveau qui résulte de l'action de la congestine sur une substance existant déjà chez les animaux anaphylactisés. C'est pourquoi j'ai proposé d'appeler *toxogénine* cette substance des animaux anaphylactisés.

Pour prendre une comparaison qui rendra le phénomène très clair : l'amygdaline est inoffensive ; l'émulsine est inoffensive. Mais, si l'on injecte ces deux substances en même temps, il se formera des composés cyanés qui seront immédiatement mortels.

On peut comparer l'amygdaline à la congestine. Injectée à un animal normal, elle n'est pas offensive, ou à peine ; mais si on l'injecte à un animal ayant de l'émulsine dans son sang (*toxogénine*), l'injection d'amygdaline sera suivie immédiatement d'accidents toxiques foudroyants.

Les expériences suivantes établissent nettement qu'il se produit une toxogénine différente du poison primitif, non toxique par elle-même, et que cette toxogénine existe dans le sang.

Dans mon précédent mémoire j'avais indiqué le fait (p. 516). Mais je n'avais pas pu, comme je le puis maintenant, en déterminer les conditions.

Disons tout d'abord que, si l'on injecte du sérum de chien

normal, on ne paraît pas modifier la réaction ultérieure à l'actino-congestine (*Rhadamante*, *Chrysostoma*, *Thraséasa*).

NOMS	Combien d'heures entre l'injection de sérum et l'injection d'actino-congestine ?	Quantité de sérum par kil. en c. c.	Dose de l'act. congest. injectée, en centigr. par kilos.	Combien de temps, en jours, entre l'inject. anaphylactisante du 1er chien et la prise de sang ?	Sort de l'animal (survie ou mort en combien d'heures ?)
Eustrate....	2.	10.	5.5	21	M. 36
Aristée.....	24	10.3	4.0	12	Survie.
Erostrata...	24	2.6	3.9	22	—
Euménide..	48	12.1	5.4	16	M. 60
Philothée...	48	4.5	5.0	21	M. 12
Eaque.....	48	29.0	4.1	17	M. 84
Alcyon.....	144	2.6	4.0	22	Survie.
Nicomède...	312	19.6	3.5	39	M. 20
Hécube.....	496	24.8	2.4	50	M. 104

En étudiant ce tableau on peut constater quelques faits bien intéressants.

Sur neuf chiens injectés et ayant reçu des doses de congestine qui ne déterminent pas la mort chez les chiens normaux (pour lesquels la dose toxique est 7.8), il y a eu, en chiffres bruts, six morts, soit une mortalité de 66 0/0. Mais en réalité la mortalité doit être évaluée à 100 0/0.

En effet, il est nécessaire — si l'hypothèse d'une toxogénine est vraie — qu'il en soit injecté une quantité suffisante. Or, sur les neuf chiens ayant reçu du sérum anaphylactisant, il y en a deux qui n'en ont reçu qu'une très faible quantité, probablement trop faible (*Érostrata* ; 2 c. c. 6. *Alcyon* ; 2 c. c. 6 par kil.). Ces deux chiens ont survécu à l'injection de congestine. Donc il est probable que l'action de la toxogénine n'est pas tout à fait comparable aux actions diastasiques pour lesquelles une dose minimale est suffisante, mais qu'il s'agit là d'une substance toxinogène qui doit être injectée en quantité appréciable pour produire une action toxique.

Si, de même que *Érostrata* et *Alcyon*, *Aristée* a survécu, c'est

qu'il a reçu du sérum d'un animal imparfaitement anaphylactisé ; car il n'y avait que 12 jours que ce chien avait reçu l'injection de congestine, et nous avons vu qu'au bout de 12 jours l'anaphylaxie existe à peine : la période d'incubation nécessaire au développement de la toxogénine n'est pas achevée encore.

Aussi pourrons-nous conclure que la mort est fatale après des doses de 3, 4 ou 5 centigr. de congestine injectées à des animaux ayant reçu au préalable une injection de sérum anaphylactisant.

En réalité les animaux ayant reçu ce sérum anaphylactisant se comportent à peu près comme les animaux anaphylactisés, à l'intensité près des phénomènes. C'est-à-dire que la réaction à l'injection de congestine est violente et immédiate, et qu'il n'y a pas de période d'incubation.

Les expériences suivantes prouvent qu'il en est ainsi.

Eustrate, de 7^{kil} 3, a reçu à 5 h. du sérum de *Proserpine* (70 c. c.), ce qui l'a rendu assez malade, contrairement à ce qu'on observe en général. Alors, à 6 h. 55, on fait l'injection de congestine. Après injection de 0,012 (par kil.) vomit. Respiration angoissée. État d'hypnose, presque de cécité psychique. Après une nouvelle injection de 0^{gr},012, il est dans un état comateux, ne cherche pas à se lever de la table, quoiqu'on l'ait détaché. Vomissements violents et douloureux. Fin de l'injection (0,055 par kil.) à 7 h. 9. Il est alors dans un état lamentable. Vomissements, diarrhée, ténesme. Il peut à peine se tenir debout. Le lendemain il a du sang dans les fèces ; et il meurt 36 heures après l'injection.

Nicomède, de 6 kilos, a reçu il y a 13 jours 19 c. c. 6 par kil. du sang de *Minos*. Après injection de 0^{gr},0037 (par kil.) vomit. On continue l'injection, et on lui donne 0^{gr},035 (par kil.) Alors, détaché, il présente des phénomènes de vomissements répétés, de défécation, et surtout une sorte d'ataxo-paraplégie du train postérieur. Il meurt dans la nuit.

Éaque, de 6^{k}.2, a reçu il y a deux jours le sérum de *Thalessa* (29 c. c. par kil.) Il vomit après injection de 0^{gr},014 (par kil.) Après injection de 0^{gr},041, il paraît assez malade. Vomissements répétés, diarrhée séreuse, presque sanguinolente. Ténesme rectal intense.

Je pourrais donner le détail des autres observations, rappe-

ler celle de *Diogène*, rapportée dans mon mémoire sur la mytilo-congestine, mais je pense que c'est assez pour prouver que le sérum des animaux anaphylactiques, quinze jours et même cinquante jours après l'injection de congestine, contient une substance qui n'est pas de la congestine, mais qui est une *toxogénine* capable de développer, par réaction avec la conges tine même, une substance très toxique, une *apotoxine* (ἄπο, dérivant de).

Enfin on remarquera que la mort, chez les chiens ayant reçu du sérum, survient assez vite. Sur les 6 chiens du tableau III, la durée moyenne de la survie a été de 53 heures, tandis que pour *Pollux*, *Héliodora*, *Hippocrate* et *Alcide*, chiens normaux qui avaient reçu des doses beaucoup plus fortes, la moyenne de la survie a été de 90 heures, c'est-à-dire deux fois plus longue.

Le fait essentiel, c'est que, si les animaux ont reçu dans les veines du sérum anaphylactisant, ils n'ont pas, comme après injection de congestine, une période d'incubation. C'est tout de suite que s'établit la sensibilité de l'animal au poison. Deux heures après que le sérum a été injecté (*Eustrate*), l'hypersensibilité anaphylactique est manifeste.

On comprend facilement cette absence d'une période d'incubation. Si, après injection de congestine, il faut attendre quinze jours pour que l'effet anaphylactique soit maximum, c'est que les cellules de l'organisme mettent un certain temps à fabriquer la toxogénine, laquelle, par réaction avec la congestine, va déterminer des accidents toxiques. Or, dans le sérum des animaux anaphylactisés, cette substance (la toxogénine) est fabriquée déjà. Par conséquent nulle période d'incubation n'est nécessaire. La réaction de la congestine injectée, quand on avait antérieurement injecté du sérum avec la congestine, est immédiate, instantanée.

Évidemment il eût été d'un grand intérêt de faire l'expérience *in vitro*, en mélangeant l'actino-congestine avec le sérum des chiens anaphylactisés, sérum qui contient la toxogénine. Mais je n'ai pas pu encore faire méthodiquement cette expérience; car je ne disposais que d'une quantité de substance relativement faible.

La seule tentative de ce genre est la suivante. *Actéon*

(16 kil.) reçoit 48 c. c. soit 6 c. c. p. k. du sérum de *Chrysostoma*, injectée à l'actino-congestine 40 jours auparavant, et en même temps 0gr.015 p. k. d'actino-congestine. Il n'est pas très malade, et ne présente comme unique phénomène qu'une très forte diarrhée.

D'autres expériences, qu'on trouvera indiquées au chap. IV, semblent prouver que la solution d'actino-congestine abandonnée à elle-même augmente de toxicité.

II

DE LA DOSE ÉMÉTISANTE.

L'étude de la dose *émétisante* a une très grande importance; car on peut ainsi établir une différence extrêmement nette, dès le début d'une expérience, entre les chiens normaux et les chiens anaphylactisés.

Voici d'abord comment se sont comportés, au point de vue du vomissement, les chiens normaux :

NORMAUX	N'ONT PAS VOMI à la dose de[1]	NORMAUX	N'ONT PAS VOMI à la dose de[1]
Pollux	9.1	*Teucer*	3.5
Héliodora	8.7	*Clitus*	3.5
Hippocrate	8.3	*Pygmalion*	3.1
Alcide	7.8	*Midas*	3.1
Proserpine	7.8	*Thrasymaque*	2.3
Porphyre	5.5	*Andromède*	2.2
Protagoras	5.4	*Sapho*	2.2
Hippolyte	5.2	*Épictète*	1.8
Minos	4.8	*Thersite*	1.5
Euloge	4.5	*Actéon*	1.5
Lycidas	4.5	*Thésée*	1.3
Eudore	4.2	*Tertullia*	1.0
Strabon	4.2	*Perséphone*	1.0
Thalassa	4.1	*Astyanax*	1.0
Péléas	4.0	*Styx*	0.5

1. En centigrammes par kil. d'animal.

Pour étudier la dose émétisante minimale. il faut prendre des précautions spéciales, démuseler le chien sur lequel on expérimente et procéder à l'injection avec une grande lenteur, c'est-à-dire injecter la solution en mettant deux minutes d'intervalle entre chaque c. c. injecté.

D'autre part, 4 chiens normaux ont vomi.

NORMAUX	ONT VOMI à la dose de	NORMAUX	ONT VOMI à la dose de
Parménide..........	4.4	*Amphitryon*.........	0.38
Irénée...............	3.5	*Eucrate*.............	0.22

Ainsi, sur 34 chiens, avec des doses diverses, il n'y a eu vomissement que 4 fois, soit une proportion moindre de 12 0/0.

Les chiffres sont tout à fait différents sur les chiens anaphylactisés.

Durée (en jours) de l'anaphylaxie.	ANAPHYLACTISÉS	N'ONT PAS VOMI à la dose de
11	*Styx*..................................	1.0
12	*Parménide*...........................	1.1
16	*Midas*.................................	1.1
44	*Épictète*..............................	3.1
76	*Eudore*................................	4.5
106	*Protagoras*...........................	1.2

Durée (en jours) de l'anaphylaxie.	ANAPHYLACTISÉS	ONT VOMI à la dose de	Soit 100 la dose émétisante, avant anaphylaxie (1), quelle a été la dose émétisante, après anaphylaxie ?
12	*Eucrate*..................	0.45	205.
15	*Pygmalion*..............	0.45	14.4
18	*Hippolyte*..............	1.00	19.4
18	*Thésée*..................	0.12	19.8
23	*Sapho*..................	0.17	13.0
28	*Amphitryon*.............	0.10	38.
35	*Thersite*...............	0.14	10.8
35	*Proserpine*.............	0.32	2.4
45	*Rhadamante*............	0.13	3.1
50	*Clitus*..................	0.53	15.1
56	*Irénée*..................	0.10	2.9
62	*Thrasymaque*...........	0.13	5.2
83	*Thalassa*...............	1.54	26.
130	*Minos*..................	0.18	3.8
135	*Porphyre*...............	0.68	12.1

1. Nous supposons — ce qui est tout à fait au détriment de l'idée d'une anaphylaxie, — que les chiens normaux auraient vomi, si la dose injectée avait été augmentée d'un centième.

On voit tout de suite que la proportion des chiens qui ont vomi est devenue tout à fait différente. Sur 19 chiens anaphylactisés, il y en a 13 qui ont vomi, soit 68 0/0.

Mais l'étude des chiffres de la dose émétisante, poussée un peu plus avant, donne des conclusions plus nettes encore.

En effet nous devons éliminer *Styx*, *Parménide*, *Eucrate*, qui ont été injectés avant le 13[e] jour, à un moment où l'anaphylaxie n'est pas établie encore. Nous pouvons aussi éliminer *Thalassa*, *Eudore* et *Protagoras* qui ont subi la seconde injection après le 75[e] jour, alors que l'anaphylaxie avait probablement, au moins en partie, disparu. Il reste alors, outre les 11 chiens anaphylactisés ayant vomi, *Midas* et *Epictète* qui n'ont vomi, ni lorsqu'ils étaient normaux, ni lorsqu'ils étaient anaphylactisés. Nous supposerons que leur sensibilité au vomissement est

restée la même, avant et après l'anaphylaxie = 100. Donc, en prenant la moyenne des onze chiens anaphylactisés entre le 17e et le 75e jour, on sait que, sur 11, un seul n'a pas vomi, soit 10 0/0, et que, si la dose émétisante pour ces 11 chiens normaux a été de 100, elle a été, pour ces mêmes chiens anaphylactisés, de 20.1.

Encore ce chiffre est-il absolument un maximum, puisque nous avons dû supposer, *ce qui n'est pas exact* et *ce qui est défavorable à notre hypothèse*, que les chiens normaux eussent vomi si la dose injectée eût été accrue d'un centième seulement [1].

En laissant de côté la statistique, on voit qu'en général, à dose de 7c.c., les chiens normaux ne vomissent pas, tandis qu'après une anaphylaxie de 20 à 75 jours, en général ils vomissent à la dose 0 c. c. 15, c'est-à-dire à une dose 50 fois plus faible. Rien ne peut mieux démontrer l'intensité du phénomène de l'anaphylaxie.

J'ai aussi étudié l'influence des injections successives sur la dose émétisante, mais il n'y a que peu d'expériences sur ce point.

Parménide a reçu 4 injections successives.

1°	....	A vomi à 4.4.
2°	12e jour........	N'a pas vomi à 1.1.
3°	66e jour........	A vomi à 0.8.
4°	91e jour........	N'a pas vomi à 2.6.

Nous pouvons en conclure que l'anaphylaxie est plus marquée au 66e jour qu'au 12e ou au 91e jour.

Midas a reçu aussi 4 injections.

1°	....	N'a pas vomi à 3.1.
2°	16e jour........	N'a pas vomi à 1.1.
3°	49e jour........	A vomi à 0.48.
4°	65e jour........	A vomi à 1.97.

1. Par l'étude de la mytilo-congestine nous étions arrivés à un résultat absolument analogue, et nous avions formulé cette conclusion que, dans les 30 premiers jours qui suivent la première injection, les chiens vomissent après injection d'une dose qui n'est que le 5e de la dose émétisante primitive ; mais, avec l'actino-congestine, la période anaphylactique commence plus tardivement, vers le 16e jour, et elle se prolonge sans diminuer, au moins jusqu'au 75e jour, si l'on ne prend pour la juger que l'étude de la dose émétisante. Du 75e au 140e jour, elle paraît persister encore (*Protagoras*, *Porphyre*, *Minos*).

Ainsi, au 65e jour, l'anaphylaxie était déjà en déclin relativement au 49e jour.

Protagoras a reçu 3 injections :

1°	....	N'a pas vomi à 5.4.
2°	106e jour.......	N'a pas vomi à 1.2.
3°	139e jour.......	A vomi à 0.7.

Donc il est évident que, même au 135e jour, l'anaphylaxie n'a pas disparu. En effet, au 130e jour, *Minos*, qui n'avait pas vomi par la dose première à 4.8, a vomi, pour la dose seconde, à 0.18 ; *Porphyre*, au 135e jour d'anaphylaxie, qui n'avait pas vomi pour la dose première à 5.5, a vomi, pour la dose seconde, à 0.68.

D'ailleurs, en sériant les chiens d'après la date de l'anaphylaxie, on voit bien : 1° qu'il faut un certain temps pour que l'anaphylaxie s'établisse, 15 jours ; 2° que vers le 70e jour l'anaphylaxie commence à diminuer, mais à diminuer sans disparaître.

GROUPE I. — Du 10me au 16me jour.					
		La dose émétisante a été de 100, avant l'anaphylaxie : après anaphylaxie, elle a été de			La dose émétisante a été de 100, avant l'anaphylaxie : après anaphylaxie, elle a été de
	Styx	100		*Pygmalion*	14
	Parménide	100		*Eucrate* (1)	205
	Midas	100			Moy. = 80.
GROUPE II. — Du 18me au 62me jour.					
18	*Hippolyte*	19	45	*Rhadamante*	3.1
18	*Thésée*	11	44	*Épictète*	100
23	*Sapho*	13	50	*Clitus*	15.1
23	*Amphitryon*	38	56	*Irénée*	2.9
35	*Thersite*	11	62	*Thrasymaque*	5.2
35	*Proserpine*	2.4			Moy. = 20.
GROUPE III. — Du 76me au 106me jour.					
76	*Eudore*	100	106	*Protagoras*	100
89	*Thalassa*	26			Moy. = 75.

1. Il faut éliminer de la moyenne le chien *Eucrate* qui, par une exception que je ne m'explique pas, a vomi, étant normal, à la dose de 0,22.

Donc, par l'étude seule de la dose émétisante minimale, nous voyons que l'anaphylaxie ne s'établit complètement que vers le 16e jour, et qu'elle commence à décroître vers le 65e jour.

Cette période est un peu différente de celle de la mytilo-congestine; car c'est à partir du 30e et non du 65e jour que l'anaphylaxie par la mytilo-congestine commence à décroître.

On verra plus loin que les injections de sérum des animaux anaphylactisés, ainsi que je l'avais indiqué dans mon mémoire de 1907 (p. 516), provoquent l'anaphylaxie. C'est ce que montre en toute netteté l'étude de la dose émétisante.

Chiens ayant reçu injection de sérum anaphylactisant. (Ont vomi.)			
Dose de sérum par kilo en c. c.		Combien de jours après cette injection de sérum?	Dose émétisante absolue.
10.	*Eustrate*	0.1	1.68
29.	*Eaque*	2.0	1.50
4.5	*Philothée*	2.0	1.05
12.1	*Euménide*	2.0	0.7
10.	*Aristée*	1.0	1.8
2.6	*Alcyon*	6.	1.35
19.6	*Nicomède*	13.0	0.4
(N'ont pas vomi.)			
26.	*Érostrata*	1.	3.9
25.	*Hécube*	19	2.3

Par conséquent, sur 9 chiens ayant reçu du sérum anaphylactique, il y en a 7 qui ont vomi, soit 78 0/0. Encore, pour les 2 chiens qui n'ont pas vomi, peut-on remarquer que *Hécube* n'a été injectée que 19 jours après l'injection de sérum anaphylactique, et que *Érostrata* avait reçu une quantité minime de sérum, soit 2 c. c. 6 par kilog.

Or nous avons vu qu'en général la dose émétisante est

supérieure à 7 pour les chiens normaux. Nous voyons alors que, pour les chiens ayant reçu du sérum anaphylactisant, elle est de 1,2 environ.

Ce qui nous donne, en résumé, les chiffres suivants pour la dose émétisante :

Chiens normaux	7.
Chiens anaphylactisés (du 17e au 65e jour)	0.15.
Chiens ayant reçu du sérum anaphylactique	1.2.

Il semble que la démonstration soit faite que le sérum des chiens anaphylactisés contient la substance anaphylactisante.

Par comparaison, j'ai injecté à des chiens normaux du sérum de chien normal, et, naturellement, leur sensibilité à l'actino-congestine ne s'est pas trouvée modifiée.

Rhadamante, *Thrascasa* et *Chrysostoma* n'ont pas vomi aux doses de 4.05 ; 4,40 ; 4-10.

Ainsi l'étude de la dose émétisante confirme absolument tous les faits que nous avions observés par l'étude de la dose toxique, à savoir :

1° Qu'il y a une période d'incubation pour formation de la toxogénine ;

2° Que cette toxogénine a beaucoup diminué au bout de 80 jours environ ;

3° Qu'elle existe dans le sérum des chiens anaphylactisés, et, par conséquent, que l'injection de ce sérum (contenant de la toxogénine) doit produire et produit l'anaphylaxie.

III

DES TRANSFORMATIONS DE L'ACTINO-CONGESTINE *in vitro*.

Les faits que je vais maintenant exposer n'ont pas le caractère de certitude de ceux que j'ai indiqués dans les précédents chapitres, car les expériences ne sont pas terminées encore, et il s'agit de données assez nouvelles pour exiger encore un supplément, sinon de démonstration, au moins d'explication.

Ainsi que je l'ai dit, l'actino-congestine, préparée à l'état de poudre sèche, était, dans la plupart de mes expériences, immé-

diatement avant l'injection, dissoute dans la quantité convenable d'eau.

Mais, dans certains cas, ayant préparé une quantité de dissolution plus grande qu'il n'était nécessaire, et ne voulant pas perdre ce produit précieux, j'attendais quelques jours pour faire l'injection. J'avais soin d'ailleurs (en hiver) de laisser la solution au froid; et comme la quantité de fluorure de sodium, très puissant antiseptique, était de 2 0/0 environ, que, d'ailleurs, il n'y avait ni trouble de la solution, ni odeur, je peux supposer que les altérations microbiennes étaient nulles ou à peu près.

D'ailleurs, on sait que les chiens sont absolument résistants aux injections de liquides, même très altérés par la putréfaction et les microbes. Il est difficile de produire chez eux, par des injections de microbes banaux, un phénomène morbide quelconque, de sorte qu'il me paraît peu vraisemblable d'admettre que cette solution, en apparence non altérée microbiquement, était microbiquement pathogène.

Pourtant elle s'est montrée assez toxique, comme l'indiquent les expériences suivantes :

Si l'on se reporte, en effet, au tableau où sont indiqués les résultats de toutes les expériences, on verra qu'il y a eu, pour des doses inférieures à 7.8, mort pour quelques animaux seulement.

Lycidas............	4.5 M. en 132 heures.
Euloge............	4.5 M. en 110 —
Péléas............	4.0 M. en 68 —
Tertullia...........	1.0 M. en 168 —
Perséphone.........	1.0 M. en 336 —

Or, de ces 5 chiens, 3 ont été injectés (et *Perséphone* intentionnellement) par une solution ancienne. (*Lycidas*, *Tertullia*, *Perséphone*.) De sorte qu'il n'y a eu vraiment de mortalité, avec des doses inférieures à 7.8, que pour 2 chiens sur 26.

Ce qui doit nous confirmer dans cette opinion, c'est que nuls autres chiens n'ont été injectés avec cette solution ancienne. Tous les chiens injectés avec la solution ancienne ont péri à la dose de 1. Aucun chien injecté avec la solution fraîche n'est mort pour une dose inférieure à 4.

J'ajouterai que cette solution ancienne, injectée à *Tertullia* le 5 février, a été aussi injectée à *Admète* le même jour, non plus dans les veines, mais dans le péritoine, à la dose de 0 c. c. 86, c'est-à-dire à une dose très faible. Or *Admète* est mort 11 jours après, *mais il n'y avait pas traces de péritonite*. Il est vrai que je n'ai pas d'autre expérience qui me permette de déterminer les effets, lointains ou immédiats, de l'injection péritonéale.

Alors j'ai voulu chercher à savoir si je ne pourrais pas, en présence d'un excès de substances antiseptiques qui n'agissent pas sur les phénomènes diastasiques, reproduire cette expérience.

Une solution d'actino-congestine a été pendant 2 jours mise à l'étuve en présence de benzine et de chloroforme [1], puis elle a été injectée à *Andromède* à la dose de 2,2 et n'a pas déterminé d'accidents.

D'autre part, du sérum de cheval normal a été mélangé à de l'actino-congestine, avec benzine et chloroforme, et est resté pendant 10 jours à l'étuve. La solution, purgée de chloroforme et de benzine, a été injectée à *Coclès* à la dose de 4,7, et n'a pas provoqué d'accidents.

Mais ces faits ne peuvent entraîner l'absolue conviction ; car il est fort possible que le chloroforme et la benzine aient ralenti et entravé, contrairement à l'opinion générale, l'action des diastases ; car je persiste à supposer que, si les solutions anciennes ont déterminé la mort chez *Tertullia* et *Perséphone*, ce n'est pas par l'effet d'actions microbiennes.

IV

DE QUELQUES PHÉNOMÈNES MORBIDES DÉTERMINÉS PAR L'ACTINO-CONGESTINE.

L'injection de ce poison anaphylactisant provoque une

1. J'ai montré ailleurs (*Bullet. de la Soc. de Biologie*, 1904, 216-221) que, pour obtenir avec la benzine ou le chloroforme des effets antiseptiques certains et puissants, il convient de mettre non pas benzine *ou* chloroforme, mais benzine *et* chloroforme, dans les proportions de 4 de benzine et 1 de chloroforme, ce qui constitue un liquide de même densité que l'eau, et par conséquent pouvant rester assez longtemps en émulsion dans les liquides visqueux.

véritable maladie, qui peut se terminer, soit par la guérison, soit par la mort.

Les phénomènes essentiels, c'est un rapide amaigrissement avec hématurie, diarrhée sanglante, état demi-comateux, et hypothermie.

A. *Hypothermie.*

Pollux, injecté le 27 novembre, meurt le 1er décembre à 1h,30′.

T. finale = 24°,2.

Héliodora, injectée le 14 décembre, présente la courbe thermique suivante :

15 décembre = 35°,5.
16 — = 35°.
17 — = 32°,5.

Hippocrate, injecté le 4 avril :

5 avril = 38°,8.
6 — = 38°,5.
7 — = 37°,5.
8 — = 36°,2.

Le 8 avril, mourant, il est sacrifié par hémorrhagie.

Messaline, injectée avec une autre actino-congestine (préparée par la glycérine) le 2 avril.

3 avril = 38°,5.
4 — = 37°,7.
5 — = 36°,8.
6 — = 36°,1.

Le 6 avril, est mourante, et sacrifiée par hémorrhagie.

Clitus reçoit une injection seconde, anaphylactique, le 3 février.

4 février = 37°,1.
5 — = 36°,0.
6 — = 36°,2.
7 — = 36°,0.
8 — = 36°,0.
9 — = 36°,0.
10 — = 35°,9.

11 février = 35°,7.
12 — = 28°,0.

Meurt le 12 février à 5 heures.

Lycidas est mort à 33°; *Éaque* est mort à 25° : *Amphitryon* à 32°; *Nicomède*, à 33°; *Strabon*, à 30°; *Alcide*, à 32°,9.

Même chez les chiens qui doivent survivre, la température baisse quelquefois beaucoup. (Il est inutile de rappeler ici que la température moyenne du chien est voisine de 39°. En hiver, chez des chiens laissés à l'air libre, elle est un peu inférieure ou égale à 38°,4).

Ainsi, *Protagoras*, dont, par ailleurs, l'observation détaillée a été prise (elle sera donnée ultérieurement au point de vue du métabolisme azoté), injecté le 20 décembre, a donné la courbe suivante :

21	décembre..........	37°5.
22	—	37°5.
23	—	38°0.
24	—	37°7.
25	—	38°
26	—	37°
27	—	37°7.
28	—	37°7.
29	—	36°2.
30	—	35°5.
31	—	38°

Épictète, le lendemain de l'injection, a 37°,2. *Aristée* (par une température extérieure de — 10°) a le 4me jour, 37°,5. *Sapho*, le lendemain de l'injection, a 35°,2.

Cette hypothermie est l'indice d'une dénutrition profonde, ou, ce qui revient à peu près au même, d'une altération profonde des centres nerveux.

2° *Amaigrissement et dénutrition.* — Quand la dose est forte, l'animal est dans un état de prostration et de torpeur qui ne lui permet pas de s'alimenter, et alors il maigrit très rapidement. Cette dénutrition est plus intense que chez l'animal en inanition : elle peut être dans certains cas de 2 0/0 par jour, et même davantage.

Mais ce qui est plus intéressant à constater, c'est que, même alors que l'animal continue à manger, il s'amaigrit par une dénu-

trition rapide et progressive, qui ne se termine que très tardivement. Au 50e jour, il y a encore une perte de 15 0/0 environ — ce qui est considérable — par rapport au poids primitif.

	POIDS au début = 100.	JOURS APRÈS L'INJECTION					
		10	20	30	40	50	60
Protagoras	100	72	84	83	83	91	96
Proserpine	100	73	87	»	»	»	»
Irénée	100	83	73	76	77	77	»
Amphitryon	100	83	83	83	»	»	»
Clitus	100	92	84	88	85	85	»
Rhadamante	100	90	92	92	88	»	»
Thrasymaque	100	93	77	76	81	71	»
Moy	100	83	83	83	83	81	

Ces faits doivent être retenus; ils nous prouvent que dans les 10 premiers jours le poids baisse de 17 0/0 environ, et que cette décroissance n'augmente plus, sans que, pourtant, pendant les 40 jours qui suivent, l'animal puisse retrouver son poids primitif.

Aussi bien, quoique étant en bonne santé apparente, les chiens anaphylactisés, c'est-à-dire ayant de la toxogénine dans le sang, ne peuvent-ils être regardés comme absolument normaux. Tant qu'ils ont de la toxogénine, encore que toutes les apparences de la santé soient là, ils ne sont pas rétablis encore, et ne sont pas revenus à leur poids initial.

3° *Autres phénomènes d'intoxication.* — Le symptôme constant de l'intoxication par la congestine, même lorsque la dose est faible, même lorsque les chiens sont normaux, c'est la diarrhée avec congestion intestinale intense. Cette congestion va souvent jusque à l'hémorrhagie intestinale. Même les chiens qui doivent guérir ont assez souvent pendant plusieurs jours une diarrhée sanglante.

Dans quelques cas, à l'autopsie, on trouve les lymphatiques du mésentère gorgés de sang. Par suite de l'activité de la résorption du sang intestinal, l'intestin grêle est vide; mais il y a du sang dans le gros intestin. Pourtant en général, on trouve l'intestin grêle absolument tapissé d'une couche de sang.

L'hématurie est fréquente, et on l'observe même chez les chiens qui guérissent (*Actéon*).

Si l'on saigne un animal mourant, refroidi, et respirant à peine, on ne peut retirer que très peu de sang par la fémorale ou la carotide : le sang se coagule mal et ne donne qu'une quantité de sérum tellement faible, qu'il faut laver le caillot avec une petite quantité de sérum artificiel pour obtenir une masse appréciable de liquide. Or il m'a paru que ce sang est *très toxique*.

Les expériences suivantes sont tout à fait caractéristiques :

Le 3 mars, *Strabon* est mourant et sa température est de 24°. Alors on lui prend son sang, et on le sacrifie par hémorrhagie. Le sérum (50 c. c.) est injecté, le 4 mars, à *Polycarpe* de 5 kil. Les effets immédiats de cette injection sont peu marqués, mais *Polycarpe* meurt dans la nuit du 7 au 8 mars, (84 heures de survie).

Le 8 avril, *Hippocrate* est mourant. A 2 heures sa température est de 36°,2 : il a une hématurie intense. Alors on le sacrifie par hémorrhagie. Le lendemain 9 avril, on ne peut recueillir que 13 c. c. de sérum, quoiqu'il y ait environ 225 c. c. de sang ; car le sang s'est coagulé en masse, sans exsudation de sérum. On agite le caillot avec du sérum artificiel, et on injecte, outre les 13 c. c. de sérum, 107 c. c. de sérum artificiel agité avec le caillot, le 9 avril, à *Eumène* (de 7 kil. 9). Nul accident immédiat; mais le 14 avril, *Eumène* est mourant (température = 32°,7).

Messaline a reçu le 2 avril 0gr,043 (par kilogramme) de l'actino-congestine à la glycérine. Le lendemain elle n'est pas très malade (température = 38°,5). Mais le 6 avril, elle est mourante (température = 34°,2). Alors on la sacrifie et on recueille son sang. On n'obtient que 21 c. c. de sérum, quoiqu'il y ait environ 125 c. c. de sang ; car le sang se coagule mal, sans exsudation de sérum. On agite le caillot avec du sérum artificiel, et on injecte, outre les 21 c. c. de sérum, 125 c. c. de

sérum artificiel agité avec le caillot, à *Esculape* de 6 kil. 50.

Or, l'expérience d'anaphylaxie faite sur *Esculape* le 15 mai, prouve qu'il était anaphylactisé; car il meurt en moins de 24 heures, après injection de 0gr,027 (par kilogramme), et il vomit à la dose de 0gr,0034 (par kilogramme).

CONLUSION : THÉORIE

Nous devons maintenant essayer de dégager les lois générales qui résultent de ces faits.

Ce qui est d'abord tout à fait évident, c'est que l'organisme des animaux injectés à la congestine fabrique une substance spéciale tout à fait différente d'une antitoxine, substance que je propose d'appeler *toxogénine*.

Quoique assurément cette substance n'ait pas pu être isolée, elle a cependant certains caractères bien nets qui permettent de déterminer les conditions de sa formation et ses effets physiologiques.

Les caractères que je donnerai ici s'appliquent évidemment à la toxogénine du poison des actinies; mais il est probable que, pour beaucoup de poisons (et spécialement les poisons anaphylactisants), ces lois sont générales.

1° La toxogénine est inoffensive, puisque les chiens anaphylactisés ont toutes les apparences de la santé et que leur sang, injecté à des chiens normaux, n'est pas offensif;

2° Cette toxogénine inoffensive a l'étrange propriété de développer un poison par réaction avec la congestine; car, si l'on injecte de la congestine, soit à un chien anaphylactisé, soit à un chien ayant reçu du sérum de chien anaphylactisé, l'animal ainsi traité meurt très vite. Tout se passe comme si l'on avait la réaction suivante.

Toxogénine + Congestine = Apotoxine.

Ainsi, pour déterminer les accidents immédiats, soudains, de coma, de dyspnée, de paraplégie et d'insensibilité, tous phénomènes de l'intoxication du système nerveux deux substances sont-elles nécessaires et suffisantes : 1° la *toxogénine*, qui se trouve dans le sang 15 ou 30 jours après injection de congestine ; 2° la *congestine* qu'on injecte 15 ou 30 jours après

l'injection première. De même que pour l'intoxication cyanhydrique, il faut que l'amygdaline et l'émulsine réagissent l'une sur l'autre. C'est la seule explication rationnelle qu'on puisse donner de l'anaphylaxie ;

3°. La toxogénine ne se produit pas immédiatement. Elle ne se forme qu'après une période d'incubation assez longue. Quoiqu'il soit difficile de préciser les jours, on peut admettre qu'elle commence à se former au 6e jour. (Expérience sur *Plaute*) et qu'elle continue à croître jusqu'au 25e jour (*Sapho*). Elle commence à diminuer vers le 75e jour (*Eudore*). Elle a notablement diminué vers le 106e jour (*Protagoras*). Mais elle n'a pas disparu, même au 135e jour (*Porphyre*). Il y a donc une période d'incubation (25 jours ; une période d'état (50) ; une période de déclin (50 jours). Ces chiffres, si approximatifs qu'ils soient, permettent pourtant de se faire une bonne idée du phénomène.

Nous dirons donc que la toxogénine (des actinies) se forme en 25 jours, persiste sans diminuer pendant 50 jours, et n'a pas disparu au 135e jour ;

4° Comme il ne peut y avoir en même temps dans le sang toxogénine et congestine sans phénomènes graves, il s'ensuit que, chez les animaux qui doivent guérir, il ne peut y avoir en même temps toxogénine et congestine, de sorte que la toxogénine ne peut commencer à apparaître, vers le 12e jour, que quand il n'y a plus de congestine dans le sang. En effet, si 12 jours après une injection de congestine, j'injecte une dose faible de congestine 0gr,001 (par kilogramme), immédiatement le vomissement apparaît, avec des phénomènes graves. Donc certainement il restait dans le sang de ce chien moins de 0gr,001 de congestine ;

5° L'expérience ingénieuse proposée par M. Roux, de donner de l'éther pour supprimer les effets de l'anaphylaxie prouve formellement que l'apotoxine (résultant de l'action de la congestine sur la toxogénine) est un poison du système nerveux ; car les anesthésiques, comme on sait, empêchent les autres poisons d'agir sur le système nerveux. Un animal chloralisé ne peut plus être empoisonné par la cocaïne, la strychnine et les sels ammoniacaux ;

6° Quoique la toxogénine existe dans le sérum, il n'est pas probable que le sérum la contienne toute ; car les animaux

injectés même avec beaucoup de sérum toxogénique ne présentent jamais les accidents foudroyants, immédiats, des animaux anaphylactisés. Provisoirement nous supposerons que la toxogénine existe dans les cellules nerveuses ; celles-ci, étant imbibées de toxogénine, réagissent immédiatement à l'action de la congestine injectée dans le sang, absolument comme des cellules imprégnées de phénolphtaléine réagiraient par une coloration rouge à une injection de soude dans le sang.

Mais, si la dose est petite, cet effet foudroyant se dissipe assez vite ; et d'autres symptômes, plus lents, au bout de quelques heures se produisent (congestion de l'intestin, selles sanglantes, etc.) qui indiquent la généralisation de l'action toxique à d'autres cellules que les cellules nerveuses de l'axe encéphalo-médullaire. Aussi bien pourrons-nous admettre que la toxogénine est diffusée dans toutes les cellules de l'organisme, mais qu'elle s'est surtout localisée dans les cellules médullaires et cérébrales, d'ailleurs plus sensibles que toutes les autres à l'action des poisons ;

7° La relation entre la toxogénine et l'antitoxine reste à établir. Avec le poison des actinies je n'ai pas pu déceler encore nettement une antitoxine, mais ce que j'ai vu sur la mytilo-congestine me permet de supposer que l'antitoxine se développe parallèlement à la toxogénine, de sorte que, lorsque la toxogénine a disparu, c'est l'antitoxine qui a pris sa place ;

8° Il est probable, quoique les expériences ne soient pas absolument démonstratives sur ce point, que la congestine *in vitro*, en solution, peut se transformer et donner de la toxogénine ; ou tout au moins qu'elle devient plus toxique *in vitro*, comme si les transformations successives qu'elle subit dans l'organisme pouvaient se produire *in vitro*.

DU MÉCANISME DE L'ANAPHYLAXIE
VIS-A-VIS DU SÉRUM DE CHEVAL[1]

Par le Dr BESREDKA

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

L'histoire de l'anaphylaxie vis-à-vis de sérums nous a appris un certain nombre de faits dont l'interprétation ne laisse pas que d'être fort embarrassante. Un des faits les plus curieux est celui qui a trait à la sensibilisation par petites doses de sérum.

On sait, en effet, que pour créer chez un cobaye un état d'anaphylaxie, il suffit de lui injecter, douze jours auparavant, une dose minime de sérum ; ainsi, avec 1/100 — 1/200 c. c., le résultat est certain ; mais on réalise aussi bien l'anaphylaxie avec des doses beaucoup plus faibles.

Par contre, dès qu'on dépasse 1/50 c. c., l'anaphylaxie est de moins en moins certaine et de plus en plus lente à s'établir ; en injectant des doses massives de sérum (3 - 5 c. c.), non seulement on n'anaphylactise pas aussi bien qu'avec 1/100 — 1/200 c. c., mais encore on protège le cobaye déjà sensibilisé contre les accidents anaphylactiques.

Saisir la cause de cette différence c'était évidemment tenir la clef de la plupart des phénomènes d'anaphylaxie connus et, peut-être, même encore inconnus ; c'est pourquoi nous avons cru utile de nous attarder à ce problème. Nous l'avons fait d'autant plus que nos études antérieures nous ont déjà préparé à une certaine conception de l'anaphylaxie, que nous avons tenu à vérifier par des analogies tirées des phénomènes d'ordre différent. Nous nous sommes adressé à des hémolysines.

***

En combinant d'une manière déterminée, *a*) les hématies, *b*) l'hémolysine et *c*) l'antihémolysine, on réussit à reproduire ce phénomène, paradoxal au premier abord, qui se traduit par un effet positif après une dose faible et un effet nul ou tardif avec une dose élevée du même mélange.

1. Voir la note préliminaire dans les *Compt. rend. Soc. Biol.* Séance du 12 octobre 1907. Voir aussi les quatre mémoires antérieurs sur l'anaphylaxie, ces *Annales*, février, mai, octobre, décembre 1907.

L'expérience nous montre, en effet, que si l'on mélange *l'antigène* (hématies de lapin) avec de *l'antihémolysine* correspondante (sérum de lapin préparé avec du sérum hémolytique de cobaye), et si l'on injecte le mélange à un cobaye neuf, ce dernier va se comporter différemment suivant la dose de l'antihémolysine ajoutée : le cobaye produira de l'hémolysine dans des conditions normales ou n'en produira qu'avec un retard considérable, suivant la proportion dans laquelle l'antihémolysine et les hématies se trouveront dans le mélange injecté : à dose égale d'antigène, la fabrication de l'hémolysine sera d'autant plus retardée que la proportion d'antihémolysine a été plus élevée.

Voici, à titre d'exemple, la description d'une de ces expériences.

Deux lapins neufs sont injectés le 26 et le 31 août 1907, sous la peau, avec du sérum de cobaye préparé, rendu hémolytique pour les hématies de lapin. Le 13 septembre les deux lapins sont saignés; leur sérum se montre très antihémolytique.

Le 9 novembre on injecte à 5 cobayes les mélanges suivants :

Cobaye nº 1. — 0,5 c. c. de globules rouges de lapin + 4 c. c. d'eau physiologique.

Cobaye nº 2. — 0,5 c. c. de globules rouges de lapin + 1/2 c. c. de sérum normal de lapin.

Cobaye nº 3. — 0,5 c. c. de globules rouges de lapin + 4 c. c. de sérum normal de lapin.

Cobaye nº 4. — 0,5 c. c. de globules rouges de lapin + 1/2 c. c. de sérum anti-hémolytique de lapin.

Cobaye nº 5. — 0,5 c. c. de globules rouges de lapin + 4 c. c. de sérum antihémolytique de lapin.

Le 20 novembre, les cinq cobayes sont saignés partiellement; le lendemain leurs sérums sont examinés au point de vue de leur pouvoir hémolytique : on verse de chaque sérum I, II, III, IV gouttes dans de petits tubes contenant X gouttes d'émulsion d'hématies de lapin à 5 °/₀.

L'examen de ces tubes fait de cinq minutes en cinq minutes montre que dans tous les tubes, sauf dans les quatre derniers, l'hémolyse s'accomplit avec une vitesse égale; au bout d'une heure, les globules sont dissous dans tous les tubes, sauf dans les quatre tubes où il a été ajouté I, II, III et IV gouttes de sérum du cobaye nº 5, c'est-à-dire de sérum du cobaye qui avait été injecté avec un mélange d'hématies et d'une forte dose de sérum antihémolytique.

Donc, le fait d'injecter des hématies, soit de l'antigène, en présence d'une quantité considérable d'antihémolysine suffit pour rendre impossible la mise en évidence de l'hémolysine.

L'expérience de contrôle montre que la même dose d'antigène, injectée seule ou mélangée avec du sérum normal de lapin, ou bien mélangée avec une dose faible d'antihémolysine, est toujours suivie de production d'anticorps.

Cette action paralysante de l'antihémolysine n'est pas définitive, car si l'on attend, pour éprouver le sérum des cobayes, huit jours de plus, on constate que le pouvoir hémolytique finit par se manifester ; à ce moment son titre est à peu près égal à celui des cobayes témoins qui avaient reçu un mélange d'hématies et de sérum normal. Nous devons faire remarquer que ce pouvoir hémolytique que l'on arrive à mettre en évidence seulement trois semaines après l'injection d'hématies, est peu accentué, mais il est également faible chez tous les cobayes.

Cette expérience qui a été répétée sur trois séries de cobayes avec les mêmes résultats, montre que l'antihémolysine ajoutée à des hématies exerce une action inhibitrice sur la production d'hémolysine ; en d'autres termes, la présence d'une antilysine à côté de l'antigène est susceptible de masquer ou de retarder la mise en jeu de la lysine.

* * *

Il est très vraisemblable que dans l'anaphylaxie qui, elle aussi, est fonction d'un anticorps, on a affaire à un phénomène du même ordre.

En effet, si nous admettons que tout sérum normal possède à la fois deux propriétés, celle d'antigène et celle d'antilysine, on pourrait s'expliquer pourquoi les petites doses de sérum sensibilisent si bien, tandis que des doses élevées ne sensibilisent que tardivement. Pour le comprendre, nous n'avons qu'à nous reporter à l'expérience de tout à l'heure avec l'antihémolysine et nous rappeler que l'anaphylaxie est due à l'apparition dans l'organisme d'un anticorps qui est la sensibilisine [1].

En effet, lorsqu'on injecte au cobaye une faible dose de sérum (1/100-1/200 c. c., par exemple), la sensibilisine qui se forme dans l'organisme aux dépens du sérum injecté, ne rencontrant aucun obstacle, va se fixer sur les cellules nerveuses, d'où anaphylaxie. Par contre, lorsqu'on injecte au cobaye une forte dose de sérum (1-5 c. c., par exemple), la sensibilisine

1. A cette substance que nous avons appelée sensibilisine (ces *Annales*, mai 1907), le professeur Ch. Richet, dans son mémoire sur la mytilocongestine (ces *Annales*, juillet 1907), a donné le nom de « toxogénine ».

qui est fabriquée par l'animal, se trouve neutralisée, au fur et à mesure de sa formation, par les propriétés antisensibilitiques du sérum restant ; comme elle n'arrive pas dans ce cas à toucher la cellule nerveuse, il n'y a point d'anaphylaxie.

Si l'on veut superposer les phénomènes se passant au cours de l'anaphylaxie sur ceux que nous venons d'observer pour les hémolysines, il faut admettre dans le sérum l'existence de deux substance distinctes dont une serait l'équivalent des hématies (antigène) et la seconde l'équivalent de l'antihémolysine (antilysine).

On peut aussi envisager la question autrement. M. Roux, notamment, est d'avis qu'il n'est pas besoin d'admettre dans le sérum deux substances séparées : à la rigueur, l'antigène à lui seul peut réunir les deux propriétés : celle de donner naissance à la sensibilisine, d'une part, puis celle de se combiner avec la dernière, d'autre part.

Mais quelle que soit l'interprétation que l'on adopte, ce qui est certain et ce qui caractérise surtout le phénomène d'anaphylaxie, c'est que le sérum est appelé à jouer un double rôle : tantôt de créer la sensibilisine en sa qualité d'antigène, tantôt de neutraliser celle-ci comme le ferait un véritable anticorps ou une antisensibilisine.

* * *

Toutes ces considérations et analogies, relatives à la dualité des fonctions des sérums, ont pour point de départ l'expérience suivante.

Ayant observé dans nos expériences antérieures que la propriété toxique des sérums s'atténuait à des températures élevées (à partir de 56° jusqu'à 100°), nous avons recherché s'il en était de même pour leur propriété sensibilisante.

Nous fûmes assez surpris de constater que dans le sérum chauffé, alors que toute action toxique avait disparu, la propriété sensibilisante restait complètement intacte. Nous dirons même plus : en éprouvant les cobayes sensibilisés avec des sérums inégalement chauffés, nous avons eu l'impression que les sérums sensibilisaient d'autant mieux qu'ils avaient été portés à des températures plus élevées [1].

1. Tous nos sérums devant subir le chauffage à une température dépassant 70° sont préalablement dilués de trois volumes d'eau distillée, puis ramenés ou non, selon le cas, au volume primitif.

Ainsi, les sérums chauffés à 100° et même à 120° pendant 15 minutes, qui sont dénués de tout pouvoir toxique, gardent cependant leur pouvoir sensibilisant aussi bien, sinon mieux, que les sérums non chauffés, par conséquent, toxiques.

Il y a donc lieu de dissocier dans le sérum normal la propriété qui, chez le cobaye sensibilisé, préside à l'effet toxique, et la propriété qui, chez le cobaye neuf, préside à la sensibilisation; la première disparaît après chauffage de sérum à 100°, la seconde, au contraire, persiste à toutes les températures.

Nous sommes donc autorisé à affirmer la dualité des fonctions de sérum et cela, en nous basant sur la possibilité de dissocier les deux propriétés par la chaleur.

Ce double caractère qu'offrent les sérums, permet d'expliquer un grand nombre de faits, comme nous allons le voir dans la suite.

Mais, avant d'aller plus loin et pour éviter de longues circonlocutions, nous proposons de désigner une des fonctions de sérum sous le nom de *sensibilisinogène* et l'autre sous celui d'*antisensibilisine ;* pour la commodité de la description, nous allons en parler dans la suite comme s'il s'agissait de deux substances, en nous rappelant toutefois que nous visons par ses qualificatifs surtout deux propriétés, relevant d'une seule substance, peut-être.

Le *sensibilisinogène* est la substance thermostabile ; c'est celle qui, en sa qualité d'antigène, donne naissance, au bout de douze jours, à l'état anaphylactique; c'est elle qui produit ce corps nouveau qui présente une affinité particulière pour la cellule nerveuse et que nous avons appelée dans un des mémoires antérieurs, sensibilisine [1].

L'autre substance du sérum, appelée *antisensibilisine*, est thermolabile; nous la désignons ainsi par analogie avec l'antihémolysine; comme cette dernière, l'antisensibilisine se caractérise surtout par sa propriété de se combiner avec la sensibilisine, que celle-ci soit libre ou qu'elle soit déjà fixée sur la cellule nerveuse.

Au moyen de ces trois éléments : sensibilisine, sensibilisi-

1. Comme il résulte d'une de nos expériences faites dernièrement, la sensibilisine ne résiste pas au chauffage à 100°-20'.

nogène et antisensibilisine, on peut facilement expliquer tous les phénomènes d'anaphylaxie jusqu'à présent connus.

* *
*

Commençons par le choc anaphylactique qui se présente avec un ensemble de symptômes particulièrement impressionnant, lorsque le sérum est injecté dans le cerveau des cobayes sensibilisés. Or, si ces derniers réagissent si violemment, surtout à l'épreuve cérébrale, c'est qu'il se fait, au niveau de la cellule nerveuse, une rencontre subite de la sensibilisine qui y était fixée, avec l'antisensibilisine qui est apportée par le sérum.

Le choc est d'autant plus violent que l'affinité entre ces deux substances est plus marquée.

Si nous disons qu'un sérum est toxique, ce n'est pas qu'il renferme une substance toxique déterminée ; la toxicité de sérums, qui est, comme nous l'avons montré ailleurs, très variable, est fonction de deux substances, non toxiques par elles-mêmes, mais devenant toxiques par suite de leur union.

S'il en est ainsi, on doit pouvoir atténuer la toxicité d'un sérum, et partant les troubles anaphylactiques, en empêchant plus ou moins cette union. C'est ce qui arrive en réalité lorsque, par exemple, on agit sur l'antisensibilisine, laquelle se prête à certaines modifications, vu son caractère thermolabile (voir plus haut).

Ainsi, lorsqu'on injecte dans le cerveau des cobayes sensibilisés du sérum qui avait été chauffé à 76° et, à plus forte raison, à 100°, l'affinité de l'antisensibilisine pour la sensibilisine est très amoindrie, et l'union ne se fait guère ou ne se fait que très lentement; aussi voyons-nous que l'animal sensibilisé supporte admirablement bien l'épreuve cérébrale dans ces conditions. De plus, comme la combinaison entre les deux substances en question ne s'était pas produite, la sensibilisine demeure naturellement non saturée, et il suffit de soumettre ce cobaye à une nouvelle épreuve cérébrale, cette fois-ci avec du sérum non chauffé, pour voir aussitôt éclater chez lui le syndrome anaphylactique classique.

Or, cela ne pouvait se produire que dans le cas où la sensibilisine se trouvant au niveau des cellules nerveuses, n'avait pas été antérieurement touchée par l'injection du sérum chauffé.

On conçoit ainsi pourquoi, chez un cobaye sensibilisé, un sérum chauffé à 100° ne provoque pas d'accidents anaphylactiques, et on conçoit aussi pourquoi le sérum chauffé à 100° ne confère pas d'immunité anti-anaphylactique, au moins dans les premières 24-48 heures qui suivent son injection [1].

* * *

On peut, comme il a été indiqué dans un des mémoires précédents, empêcher les troubles anaphylactiques au moyen de l'éther.

A la suite de cette expérience qui nous a été suggérée par M. Roux, nous en avons fait beaucoup d'autres avec divers anesthésiques. C'est le chloréthyle qui nous donna les meilleurs résultats; mais il ne vaut pas l'éther, car il est d'un maniement plus difficile.

Le chloréthyle qui endort le cobaye avec une extrême rapidité a, de plus, l'avantage, de s'éliminer très rapidement; seulement c'est aussi son défaut, car on n'arrive à maintenir la narcose que par une administration presque ininterrompue de l'anesthésique; or, un excès de chloréthyle est souvent funeste au cobaye; il faut donc surveiller de près l'animal et ne lui faire respirer que le chloréthyle coupé d'air.

L'uréthane ($0^{gr}.40$) qui nous a été recommandé par M. Nicolle, et le chloralose ($0^{gr}.05$) peuvent bien donner aux cobayes une survie de plusieurs heures (jusqu'à 16 heures), alors qu'à l'état de veille les témoins meurent en 2-3 minutes, seulement avec ces substances nous n'avons jamais réussi à avoir une survie définitive.

Il est certain que si M. Roux a eu l'idée d'employer les anesthésiques, et l'éther en particulier, c'est qu'il espérait rendre ainsi insensible la cellule nerveuse au choc qui a lieu à son niveau lors de l'arrivée du sérum.

L'éther ne peut pas évidemment influencer en quoi que ce

1. On aurait tort de croire, comme nous l'avons déjà indiqué ailleurs, que le chauffage à 100° détruit complètement la propriété vaccinante du sérum et voici pourquoi. Certes, une dose même massive (4 c. c.) de sérum chauffé à 100 degrés, injecté dans le péritoine de cobaye sensibilisé, ne préserve pas ce cobaye de la mort, lorsqu'on l'éprouve dans le cerveau vingt-quatre heures après; mais, lorsqu'on attend plusieurs jours avant de passer à l'épreuve intracérébrale, on ne tarde pas à constater que le sérum, même chauffé à 100 degrés, confère au cobaye une immunité assez sérieuse. Il s'ensuit donc que le chauffage à 100 degrés ne détruit pas complètement la propriété protectrice du sérum, mais apporte seulement un retard considérable à la mise en jeu de cette propriété.

soit l'affinité qui existe entre la sensibilisine déjà fixée sur la cellule et l'anti-sensibilisine qui y arrive avec le sérum, mais ce que l'éther peut, c'est de permettre à la cellule nerveuse de rester indifférente à cette union et de ne pas souffrir de sa brusque séparation avec la sensibilisine.

Dès que ce moment dangereux de séparation est passé, à la faveur de la narcose, le cobaye ne court plus aucun risque ; non seulement il n'a plus à redouter de troubles anaphylactiques à son réveil, mais encore il se réveille vacciné; ses cellules sensibles sont désormais débarrassées de la sensibilisine, cette dernière étant entrée en combinaison, pendant qu'il dormait, avec l'antisensibilisine du sérum injecté.

***

On peut encore empêcher ou même complètement prévenir les accidents anaphylactiques en transformant la combinaison brusque de la sensibilisine et de l'antisensibilisine, en une combinaison lente, ou bien, en ne portant dans la cellule nerveuse chargée de sensibilisine qu'une quantité minime d'antisensibilisine.

Ainsi, si au lieu d'injecter le sérum (5 c. c. dans le péritoine) à un cobaye en pleine période d'anaphylaxie, on le fait dans la période préanaphylactique, on vaccine le cobaye ; cela tient à ce que, au lieu de mettre l'antisensibilisine d'emblée en contact avec la totalité de sensibilisine, on réalise cette combinaison par petites portions, à la période où la sensibilisine est en voie de formation : au fur et à mesure que celle-ci est élaborée, elle rencontre l'antisensibilisine qui la neutralise, et l'animal finit ainsi par se débarrasser de toute la sensibilisine : le cobaye devient naturellement réfractaire à l'épreuve intracérébrale.

Dans cette expérience, c'est l'antisensibilisine qui est introduite en grande quantité et qui rencontre des quantités minimes de sensibilisine.

On peut obtenir le même résultat, c'est-à-dire une immunité antianaphylactique, en renversant les conditions. L'expérience montre, en effet, que l'on peut conférer l'immunité en portant de très petites doses (1/100 c. c.) de sérum dans le cerveau de cobayes en pleine période d'anaphylaxie, c'est-à-dire en mettant

en contact de très faibles quantités d'antisensibilisine avec une dose donnée de sensibilisine.

Dans un cas comme dans l'autre, le choc anaphylactique se trouve amorti par l'insuffisance de l'une des deux substances actives.

*
* *

Nous ne nous étendrons pas sur d'autres phénomènes d'anaphylaxie, qui peuvent aussi être expliqués par l'hypothèse de deux substances — sensibilisinogène et antisensibilisine.

Quant à la troisième substance, la sensibilisine, nous avons pu, après d'autres auteurs, nous assurer de sa présence dans le sérum dans des circonstances variées.

Ainsi, nous avons réussi d'abord à la mettre en évidence dans le sang de cobayes hypersensibles.

Le 20 février, 5 cobayes bien sensibilisés sont saignés à blanc; le sang (défibriné mélangé (32 c. c.) est injecté à doses égales (8 c. c.) à 4 cobayes neufs. Si le sang renferme de la sensibilisine libre, les cobayes qui en sont injectés doivent devenir hypersensibles d'emblée vis-à-vis du sérum de cheval. En effet, les 4 cobayes soumis le lendemain à l'épreuve cérébrale (1/4 c. c. de sérum) ont donné les résultats suivants : 2 cobayes ont présenté, aussitôt après l'injection, de la toux caractéristique, de l'excitation suivie de phénomènes de parésie; mais ils se sont remis ensuite; 1 cobaye a présenté le syndrome classique, et il est mort au bout de 2 minutes; le 4e cobaye, quoique injecté dans les mêmes conditions, n'a rien présenté d'anormal.

Donc, dans trois cas sur quatre, l'épreuve cérébrale a mis en évidence la présence de sensibilisine dans le sang.

La même constatation a été faite[1] dans une expérience qui était primitivement destinée à résoudre un tout autre problème. Rappelons que, au cours de nos recherches antérieures, nous avons vu que le sérum de cobaye, ayant reçu à plusieurs reprises du sérum de cheval, n'empêche pas les troubles anaphylactiques, lorsque l'épreuve cérébrale est faite avec un mélange de sérum de cheval et de ce sérum spécifique de cobaye. Si nous en tenons au langage adopté, cette expérience montre que le sérum de cobaye-cheval ne renferme pas d'anticorps vis-à-vis de l'antisensibilisine.

Nous nous sommes demandé depuis si, dans ce sérum de cobaye-cheval, il n'y aurait pas d'anticorps vis-à-vis du sensibili-

1. *Soc. Biol.*, 12 oct. 1907.

sinogène, c'est-à-dire si ce sérum spécifique de cobaye ne serait pas capable d'empêcher la sensibilisation de cobayes neufs par du sérum de cheval.

Le 12 août 1907 on sensibilise 8 cobayes avec 1/100 c. c. de sérum de cheval (100°-20'), soit seul, soit additionné de sérum de cobaye normal, ou de cobaye-cheval (*i.e.* sérum de cobaye qui avait été injecté avec du sérum de cheval).

Cobaye n° 1. — n° 2. { *àà* 1/100 c. c. de sérum de cheval (100° — 20') + 1 c. c. d'eau physiologique.

Cobaye n° 3. — n° 4. { *àà* 1/100 c. c. de sérum de cheval (100° — 20') + 1 c. c. de sérum de cobaye normal; le mélange est laissé en contact pendant 1 heure avant l'injection.

Cobaye n° 5. — n° 6. { *àà* 1/100 c. c. de sérum de cheval (100° — 20') + 1 c. c. de sérum de cobaye *A*; ce dernier a reçu le 28 juillet 5 c. c. de sérum de cheval sous la peau et a été saigné le 11 août; le mélange est laissé en contact pendant 1 heure.

Cobaye n° 7. — n° 8. { *àà* 1/100 c. c. de sérum de cheval (100° — 20') + 1 c. c. de sérum de cobaye *B*; ce dernier a reçu trois injections de sérum de cheval (5 c. c.) dans le péritoine; le mélange est laissé en contact pendant 1 heure.

Le 7 septembre, tous ces cobayes sont soumis à l'épreuve intracérébrale; tous présentent des symptômes caractéristiques graves, auxquels 6 succombent dans l'espace de 2 minutes.

Il ressort de cette expérience que pas plus le sensibilisinogène que l'antisensibilisine ne sont neutralisés par le sérum de cobaye-cheval.

Cependant, fait curieux, ce sérum de cobaye-cheval renferme de la sensibilisine libre : si l'on injecte dans le cerveau des cobayes neufs 1/4 c. c. de ce sérum préparé de cobaye, on réussit souvent, pas toujours, à sensibiliser d'emblée l'animal; ce dernier, éprouvé le lendemain dans le cerveau avec du sérum de cheval (1/4 c. c.), manifeste un certain nombre de symptômes (toux, excitation, paralysie passagère) sur la nature desquels il est impossible de se méprendre.

Nous devons remarquer que dans ces cas, aussi bien que dans tous les autres cas où nous avons cherché à créer l'hypersensibilité passive, c'est-à-dire une hypersensibilité d'emblée par injection de sang ou de sérum de cobaye, les résultats étaient toujours inconstants : avec le même produit, sang ou sérum, on provoque un état anaphylactique chez certains cobayes, puis rien ou à peu près rien chez d'autres cobayes.

Cela tient, évidemment, à ce que l'anaphylaxie passive n'est pas aussi prononcé que l'anaphylaxie active; mais il y a là aussi probablement une question de susceptibilité individuelle de cobaye, qui, à l'heure actuelle, est impossible à expliquer.

*
* *

En terminant nous voudrions faire quelques remarques au sujet du mécanisme de l'anti-anaphylaxie dont il a été déjà question ailleurs[1].

A l'examiner de près, ce mécanisme est absolument identique à celui qui préside au choc anaphylactique; dans un cas comme dans l'autre, il s'agit d'une combinaison de l'antisensibilisine (sérum de cheval injecté dans le péritoine ou le cerveau) avec la sensibilisine, soit libre, soit fixée au niveau des cellules nerveuses. La seule chose qui distingue ces deux phénomènes, dont un se termine par la mort et l'autre par l'état réfractaire, est que dans un cas (anaphylaxie) la combinaison s'opère d'une manière brusque, tandis qu'elle est lente et progressive dans l'autre (anti-anaphylaxie).

Dans un cas comme dans l'autre, la combinaison de la sensibilisine avec l'antisensibilisine est suivie d'une désensibilisation de la cellule nerveuse et son retour à l'état primitif.

Cette conception de l'antianaphylaxie n'est pas du tout en contradiction avec le fait observé dernièrement par Otto sur la non-perennité de l'état antianaphylactique; si ce dernier n'est pas définitif dans certains cas (à la suite de l'injection d'une dose massive de sérum (5 c. c.) dans le péritoine), cela peut tenir à ce que les deux substances du sérum ne s'éliminent pas en même temps, et que le peu de sensibilisinogène qui persiste dans l'organisme du cobaye après l'élimination de l'antisensibilisine, peut suffire largement pour resensibiliser le cobaye redevenu normal.

Le cobaye anaphylactisé, puis vacciné par une dose massive de sérum, passe donc par trois stades successifs : 1° sensibilisation (par la faible dose initiale de sérum); 2° désensibilisation (par la forte dose injectée dans le péritoine); 3° resensibilisation (par la faible dose terminale de sérum).

1. Ces *Annales*, mai 1907.

CONCLUSIONS

Par analogie avec les faits observés pour les globules rouges et l'antihémolysine, on peut admettre dans tout sérum normal la présence de deux propriétés ou de deux substances dont une a le caractère d'antigène et l'autre celui d'antilysine. Nous appelons la première sensibilisinogène et la seconde antisensibilisine.

Le sensibilisinogène est thermostabile; il a pour propriété de donner naissance chez le cobaye, douze jours après l'injection, à la sensibilisine, c'est-à-dire à la substance qui crée l'état anaphylactique.

L'antisensibilisine est thermolabile : elle a pour propriété de se combiner avec la sensibilisine partout où elle la rencontre, que celle-ci soit libre comme elle est dans le sang, ou qu'elle soit fixée comme elle est dans le système nerveux.

C'est la rencontre brusque de l'antisensibilisine avec la sensibilisine au niveau de la cellule nerveuse, qui fait déclancher le choc anaphylactique.

Le choc peut être amorti soit que l'on fasse arriver lentement de l'antisensibilisine vers la sensibilisine (vaccination par doses massives de sérum à la période préanaphylactique), soit que l'on mette en contact une très faible dose d'antisensibilisine avec la sensibilisine (vaccination par doses minimes de sérum à la période anaphylactique).

On peut encore amortir le choc anaphylactique en rendant temporairement les cellules nerveuses indifférentes à cette rencontre brusque des deux substances (vaccination par anesthésiques).

Le sérum des cobayes ayant été injecté avec du sérum de cheval n'est capable de neutraliser ni l'antisensibilisine ni le sensibilisinogène.

Ce sérum de cobaye-cheval renferme cependant de la sensibilisine au même titre que le sang des cobayes rendus activement hypersensibles.

L'antianaphylaxie est due à une désensibilisation, suivie d'un retour du cobaye à l'état normal ; si l'antianaphylaxie n'est pas définitive à la suite d'une injection massive de sérum, c'est parce que le surplus de sensibilisinogène qui reste après l'élimination de l'antisensibilisine est susceptible de resensibiliser le cobaye.

LE PROBLÈME ÉTIOLOGIQUE DU CANCER

Par M. BORREL

CONFÉRENCE FAITE AU COMITÉ INTERNATIONAL DU CANCER
TENU A BERLIN LE 23 MAI 1908.

La question du cancer depuis quinze ans à peine est entrée dans une voie nouvelle ; elle est sortie du domaine des spéculations métaphysiques pour entrer dans celui de l'expérimentation ; nous ne pouvons que nous en réjouir. Le travail de Moreau *sur l'Inoculabilité* de certains néoplasmes, passé inaperçu au moment de sa publication, en 1894, a été le vrai travail initiateur, il mérite de rester dans la mémoire de tous : il aurait dû appeler plus tôt l'attention des chercheurs sur les tumeurs de la souris.

Loeb en 1901, Jensen, nous-même, Ehrlich, Bashford, Apolant, Michaelis, Flexner et d'autres encore ont depuis retrouvé des tumeurs de la souris ou du rat, inoculables et l'étude du cancer, singulièrement facilitée, est faite à l'heure actuelle dans le monde entier, grâce au matériel précieux que peut nous procurer l'élevage d'animaux aussi maniables, aussi prolifiques, aussi peu encombrants que les souris et les rats.

Tous les types de tumeurs humaines peuvent se retrouver chez la souris ou chez le rat : adéno-carcinomes du sein, épithélioma des glandes sébacées, épithélioma de la mâchoire, sarcomes variés, chondromes, tumeurs mixtes se retrouvent chez la souris avec différents types et peuvent servir à l'inoculation en série ou à des essais thérapeutiques.

Chez la souris, l'évolution des tumeurs est rapide ; grâce à la petitesse de l'animal, il est facile d'en faire l'étude complète ainsi que celle des différents organes qui peuvent présenter des métastases ; on peut saisir les premiers débuts de la tumeur et la couper en totalité.

Avec les souris qui vivent trois ans au maximum et qui donnent des générations nombreuses, il est toujours possible de soumettre à l'épreuve expérimentale la notion de l'hérédité et dans des conditions de complète certitude. Un an d'observation sur les souris, c'est un siècle de vie humaine.

Avec les souris d'un prix de revient minime, d'un entretien facile et peu onéreux, on peut grouper dans un espace restreint des milliers de sujets d'expérience : constituer des hameaux, des villages, des villes soumises à des conditions diverses et l'étude étiologique du cancer se trouve vraiment possible.

Grâce à la souris, les plus belles espérances peuvent être permises et le comité international du cancer devrait adopter, semble-t-il, comme emblème et en signe de gratitude *une souris à tumeur*.

Les résultats obtenus déjà ne sont pas négligeables. Dix ans d'expérimentation nous ont appris plus que vingt siècles d'observations. Nous savons maintenant que les tumeurs les plus variées, sarcomes, chon-

dromes, adéno-carcinomes, peuvent être transplantées et non pas seulement sur le même individu, mais sur des animaux de même espèce... et rien que sur des animaux de même espèce.

L'étude microscopique des fragments inoculés faite à de courts intervalles après l'implantation a donné la certitude que cette inoculation n'était en somme qu'une greffe et que la tumeur développée était tout entière constituée par des cellules filles descendantes des cellules du fragment inoculé sous la peau.

Les conditions de la réussite ont été fixées d'une façon précise. De minimes différences chez les souris inoculées, qui peuvent ne tenir qu'à une différence d'habitat, d'alimentation, empêchant souvent la greffe.

Si on broie finement la tumeur inoculée, si on la filtre sur papier, si on décante la macération de cellules, si on dessèche le tissu cancéreux, l'inoculation reste négative. Il faut, pour réussir à coup sûr, inoculer non pas seulement des cellules intactes (isolées), mais des fragments de tissu vivant.

La virulence ne résiste pas vingt-quatre heures à 37°. A la température de la chambre, elle peut être conservée douze jours. A la glacière, le tissu cancéreux peut rester vivant longtemps, et dans une expérience remarquable d'Ehrlich, un succès sur 60 inoculations aurait été obtenu après un séjour de 2 ans à 8°.

Toutes les expériences qui ont été faites montrent que le succès de l'inoculation expérimentale tient à l'intégrité des cellules cancéreuses inoculées et que jusqu'ici rien ne permet de conclure à l'existence d'un virus : *le rôle de la cellule cancéreuse seule est apparent.* Le fragment inoculé croit et se développe comme un organisme étranger dans l'organisme de la souris inoculée qui sert de milieu de culture aux cellules cancéreuses. S'il y a un virus, ce virus n'agit même pas sur l'organisme inoculé — tout au moins dans les conditions réalisées à ce jour — il est incapable d'y créer une cellule cancéreuse autochtone, et il en est ainsi dans toute la série des passages qui peuvent se poursuivre indéfiniment. Nous avons à l'Institut Pasteur, la tumeur B, un adéno-carcinome qui fait des passages depuis bientôt 4 ans avec 80, 90, 100 0/0 de succès, et il est tout à fait certain que les tumeurs actuelles sont constituées par des cellules qui descendent des cellules du 1° cancer spontané. Tout se passe comme si les cellules cancéreuses, une fois créées, avaient pris dans l'organisme animal les propriétés des cellules végétales : de même par bouturage on peut indéfiniment reproduire la souche qui a fourni le cap initial. La multiplication de la cellule cancéreuse n'a pas de limite.

Cette notion de la pérennité de la cellule cancéreuse, bien assise sur l'expérimentation, de date toute récente, nous éloigne de tous les faits connus en pathologie; elle nous paraît fondamentale dans la question du cancer. Elle suffit à distinguer les processus cancéreux, si obscurs encore, de tous les autres processus virulents que nous connaissons avec certitude à l'heure actuelle; elle peut permettre de définir le cancer, mais elle ne permet pas de conclure à la non existence d'un virus cancéreux.

La cellule cancéreuse porte-t-elle avec elle un agent virulent qui lui sert d'excitant inconnu et provoque toujours de nouvelles divisions? ou bien une

fois créée, cette cellule extraordinaire trouve-t-elle en elle-même ou dans l'organisme les éléments d'une multiplication indéfinie et d'une fécondation toujours renouvelée? Ce n'est là qu'une des deux énigmes que nous présente la question du cancer. Il y en a une autre :

La maladie cancéreuse expérimentale obtenue par greffe, caractérisée par la seule multiplication cellulaire, ne peut pas être comparée, ni superposée à la maladie cancéreuse spontanée, caractérisée d'abord par l'apparition de cellules cancéreuses dans un organisme jusque là normal.

Toute théorie étiologique du cancer doit expliquer non seulement la durée et la multiplication de la cellule cancéreuse, mais la cause initiale de son apparition.

Pour beaucoup de pathologistes, la théorie cellulaire seule suffit à expliquer le développement d'une tumeur cancéreuse; inclusions fœtales, déséquilibre cellulaire, fécondation incestueuse, rajeunissement karyogamique, etc., autant de théories qui ont été émises et qui s'opposent à la théorie parasitaire du cancer. Le déséquilibre cellulaire, les germes latents, l'hérédité du cancer nous rappellent singulièrement les diathèses de jadis. Reconnaissons simplement, et ce sera plus sage, qu'en fait de cancer nous ne sommes pas plus avancés que ne l'étaient les pathologistes des siècles passés lorsqu'ils dissertaient sur la tuberculose ou sur la lèpre avant la découverte des agents infectieux capables de provoquer les lésions que nous connaissons maintenant. Pour la lèpre ou la tuberculose, comme pour le cancer aujourd'hui on invoquait les puissances mystérieuses de l'hérédité et les diathèses morbides; et pourtant la lèpre, la morve, la tuberculose, l'actinomycose sont sorties du cadre obscur des tumeurs pour entrer dans le domaine bien défini des maladies infectieuses.

De cela, il y a trente ans à peine.

L'étude des infections est à peine commencée, pouvons-nous nous vanter d'en avoir pénétré tous les mystères! Pourquoi vouloir limiter déjà les modes possibles de la réaction de l'organisme? La classe des tumeurs est immense, elle comprend certainement les productions les plus variées et les plus hétéroclites, pourquoi ne pas admettre comme possible, et par principe, qu'à des virus encore inconnus ou à des modes d'infection variés peuvent correspondre des lésions spéciales dont la raison d'être sera plus tard expliquée?

A côté des maladies purement inflammatoires, des granulomes ou des tubercules, dont les lésions sont manifestement du type mésodermique et constituent des réactions du type phagocytaire, il existe des exemples nombreux d'infection où les microbes pénètrent activement dans les éléments des tissus et vivent dans la cellule infectée. Suivant le cas, cette infection peut entraîner la destruction plus ou moins rapide de la cellule ou la laisser indifférente, ou provoquer son hypertrophie, ou lui communiquer une vitalité plus grande. J'ai particulièrement appelé l'attention sur les Épithélioses, variole, clavelée, molluscum contagiosum, épithélioma contagieux des oiseaux, maladies sûrement virulentes qui se traduisent par une modification des cellules épithéliales et par une multiplication des cellules, bientôt jugulée par les réactions d'immunité. Les Épithélioses peuvent, dans une

certaine limite, nous permettre de comprendre la multiplication des cellules cancéreuses.

La comparaison est intéressante dans les cancers au début, dans les épithéliomas des muqueuses ou de la peau et je veux y insister ici parce que les images microscopiques que l'on observe ne peuvent pas s'expliquer par les théories purement cellulaires de l'inclusion embryonnaire ou du déséquilibre cellulaire.

Les épithéliomas au début, de la langue, de la lèvre, de l'utérus, etc., donnent souvent l'impression de vraies pustules à accroissement latéral : les cellules devenues cancéreuses se distinguent très bien des cellules normales et l'on peut suivre la transformation cellulaire qui se fait latéralement, de proche en proche et de jour en jour par envahissement de nouvelles cellules. Il se constitue ainsi, au point initial, une sorte de thalle d'où partiront les bourgeons cancéreux désormais métastatiques; ceux-ci se forment par la multiplication et la poussée des cellules devenues successivement cancéreuses, et de même que les métastases lointaines, se développent par la seule multiplication cellulaire : transformation progressive et en surface des cellules normales, accroissement en profondeur et par simple multiplication cellulaire doivent être distingués dans l'histogenèse d'une tumeur. Les théories de Conheim, de Ribbert et les autres théories purement cellulaires ne tiennent compte que de la seule multiplication cellulaire, elles sont impuissantes à expliquer l'extension progressive en surface et la période de transformation initiale. L'histogenèse cancéreuse s'expliquerait beaucoup mieux par l'intervention d'un agent virulent, envahissant les cellules de proche en proche et provoquant la formation de la pustule cancéreuse initiale.

Mais il faudrait que l'existence de cet agent soit démontrée par l'inoculation faite en dehors de l'intervention de cellules cancéreuses vivantes. Cette inoculation, nous ne savons pas encore la faire, et pour cela le virus cancéreux reste encore à l'état d'hypothèse. Les essais les plus variés d'inoculation virulente, de transmission du cancer par virus seul sont restés jusqu'ici négatifs, mais cela non plus ne veut pas dire que le virus cancéreux n'existe pas.

L'exemple des Épithélioses, de la vaccine en particulier, nous démontre qu'il existe des virus capables de faire proliférer les cellules épithéliales, qui ne deviennent évidents que dans certaines conditions d'inoculation. Injecté sous la peau, le virus vaccinal ne donne aucune réaction pathologique, aucune lésion qui permette d'expliquer l'existence d'un agent pathogène : il est comme s'il n'existait pas. Il faut, pour que la pustule caractéristique se produise, mettre le virus en bonne place, au contact ou dans les cellules réceptrices : la peau rasée ou épilée, des piqûres superficielles, des scarifications, sont les méthodes d'inoculations appropriées.

S'il existe un virus ou des virus cancéreux provoquant la transformation et la multiplication cellulaire, présent dans la cellule ou dans son voisinage, transporté avec des cellules par la greffe expérimentale, accompagnant les cellules cancéreuses dans leur multiplication illimitée, il est certain que nous ne savons pas encore mettre ce virus en bonne place. Avec les tumeurs

de la souris, les essais les plus divers ont été tentés et jusqu'ici sans résultat, chaque fois que la cellule cancéreuse vivante a été éliminée des produits inoculés, soit par filtration, par broyage, par décantation, par dessiccation. Souris épilées, souris rasées, souris préparées par brûlures, ulcérations, pustules n'ont jamais développé de néoplasme malgré l'application de liquides ou de macérations supposés virulents. Par nos procédés d'inoculation, dans un organisme normal, nous ne savons pas atteindre les cellules réceptrices, ni provoquer la transformation de cellules normales en cellules cancéreuses, et c'est là précisément tout le problème étiologique du cancer. Il sera résolu lorsque le ou les virus cancéreux auront été mis en évidence par la vraie inoculation expérimentale et lorsque nous connaitrons les voies de pénétration de l'infection spontanée.

J'ai rapporté, dans mon travail sur le problème du cancer, une observation qui me paraît importante, de contamination des cellules épithéliales de la souris porte-greffe par les cellules de la tumeur inoculée ; j'ai été heureux de voir, hier, dans le laboratoire du prof. Von Leyden, des préparations de M. Lewin qui montrent un exemple semblable : un cancroïde développé dans l'épiderme du rat inoculé, et exactement au contact des cellules de la tumeur inoculée, comme si dans certaines conditions d'inoculation le virus cancéreux, encore problématique, pouvait passer de la greffe au porte-greffe. Il y a, dans ces faits, presque la démonstration de l'inoculabilité.

Au début des études microbiologiques, la conception de la maladie cancéreuse était essentiellement simpliste et l'on a recherché dans les cancers un microbe ou des microbes analogues aux autres agents pathogènes décrits dans les maladies virulentes jusque-là connues. Nous avons eu les microbes du cancer de Scheuerlen, de Rappin, de Schattock-Ballance, etc., nous avons eu aussi le *micrococcus neoformans* de Doyen, mais tous ces microbes sont depuis longtemps oubliés ou en passe de le devenir. Nous avons eu aussi le *sacch. neoformans* de San Felice, les champignons de Bra. Nous avons eu les coccidies de toutes les manières : coccidies de Neisser ou de Wickham, coccidies de Foa, de Ruffer, Soudakewitch, coccidies de Sawchenko. Je crois qu'il est à peu près unanimement admis maintenant que tous ces pseudo parasites, y compris les yeux de pigeon, ne sont que des modes particuliers de la sécrétion cellulaire dans les tumeurs cancéreuses.

Plus récemment, les spirilles ont eu un certain succès, et Gaylord par exemple, puis Calkins, semblaient vouloir admettre le rôle du *Sp. microgyrata*, var. *Gaylordi*, dans le développement des tumeurs de la souris. Tyzzer, Wenyon et nous-mêmes avons protesté contre cette interprétation trop hâtive. On trouve en effet très souvent des spirilles dans des tumeurs cancéreuses spontanées de la souris, et ce fait est en effet remarquable, mais on en trouve aussi chez des souris qui ne présentent pas et ne présenteront jamais de tumeurs cancéreuses.

Par l'inoculation, on peut infecter les souris de spirillose en même temps que de cancer, et nous avons eu dans nos passages de la tumeur B. toute une série de souris contaminées par des spirilles, mais à côté d'autres séries parallèles de tumeurs inoculées restaient dépourvues de spirilles.

Le rôle des spirilles dans le developpement du cancer de la souris reste à démontrer. Peut-être les souris spirillées, comme les hommes syphilitiques, sont-elles plus facilement cancéreuses? Il n'est pas pour cela nécessaire d'admettre une relation causale directe, et la question est de celles qui peuvent être résolues expérimentalement.

L'étiologie des tumeurs cancéreuses, avec les données actuelles, nous paraît beaucoup moins simpliste ; elle se présente comme un problème complexe et le mystère qui l'entoure tient probablement à la complexité des conditions nécessaires pour réaliser l'infection.

Déjà les tumeurs à coccidies ne sont pas directement transmissibles de lapin à lapin, les produits virulents ne sont pas inoculables. Il faut, pour que la contagion se produise, une évolution nouvelle de l'agent pathogène dans le milieu extérieur. La coccidiose est une maladie miasmatique, comme le paludisme, comme la filariose, comme la fièvre jaune : mouches, moustiques, insectes piquants variés sont les hôtes intermédiaires des parasites spécifiques et les agents de la contagion. Pour le cancer, nous n'en sommes encore qu'à la période des hypothèses possibles et nous n'avons même pas le droit de parler de maladies miasmatiques... mais nous pouvons y penser si nous envisageons à l'heure actuelle les conditions de l'apparition des tumeurs cancéreuses, soit chez l'homme, soit chez la souris, dans les pays à cancer, et surtout dans les élevages cancéreux.

Les observations cliniques, statistiques, épidémiologiques, ne vont pas à l'encontre de l'hypothèse du cancer, maladie parasitaire et de cause externe. Les faits apportés par le docteur Behla démontrent qu'il y a des localités, des rues, des maisons à cancer. Les études statistiques de Kolb, d'Aschof, prouvent qu'il y a des villes plus particulièrement atteintes, que les bords des cours d'eau, les embouchures des fleuves, les pays de culture maraîchères, paient un lourd tribu à la maladie cancéreuse : à la campagne, le cancer serait dix fois plus fréquent qu'à la ville et toutes les statistiques parlent dans le même sens. Il y a même des localisations de certaines formes : D'une communication orale du docteur Marchoux, il résulterait que le sarcome est particulièrement fréquent au Brésil. Le professeur Lignières nous a signalé l'abondance extrême des cancers de la bouche et de la gorge dans la République Argentine. La rareté du cancer dans les pays chauds, en Tunisie, en Algérie, est de notion courante. En France, et suivant les régions, la morbidité du cancer présente des variations notables. Le docteur Fiessinger a indiqué des localités cancéreuses dans le département de l'Ain, il y a plus de 20 ans. Le cancer de la lèvre et de la face, si fréquent dans les vallées des Cévennes, est plutôt rare à Paris. Certaines villes de Normandie ont une réputation fâcheuse et tout récemment un médecin du Nord me signalait 3 cas de cancer de la vessie survenus en quelques mois dans un hameau de 65 habitants.

De pareilles données ne sauraient êtres négligées, elles auront encore plus de valeur lorsqu'elles seront établies sur des bases solides et non par ouï-dire ou sur des impressions. A ce point de vue, le Comité international pourra faire œuvre utile et nul doute qu'une statistique générale dans toutes les parties du monde n'apporte des données utiles pour le problème du cancer.

Au même point de vue étiologique, les élevages de souris ne sont pas moins intéressants et j'ai signalé depuis longtemps les épidémies survenues dans certains élevages ou la proportion des tumeurs spontanées a pu atteindre jusqu'à 10 0/0 du contingent de vieilles souris femelles. Dans beaucoup d'autres élevages, au contraire, il ne paraît jamais un cas de cancer. Michaelis, Gaylord, etc., ont signalé des faits de même ordre.

On a voulu expliquer ces épidémies par une hérédité locale chez des souris consanguines. L'expérience directe, une fois faite à l'Institut Pasteur, est tout à fait contraire à cette notion. Des souris issues sûrement de mères cancéreuses ont été gardées 2 et 3 ans dans des cages neuves, elles ont pullulé en famille et jamais il ne fut possible de constater un cas de cancer. Ces expériences d'hérédité sont faciles à réaliser avec la souris qui donne 3 générations en un an et je les continue actuellement ; elles peuvent être vérifiées partout. Combien plus difficiles seraient chez l'homme des observations certaines de généalogie cancéreuse ! Si l'on en croit les statistiques du Midleseix Hospital, les descendants de cancéreux sont mieux protégés que les descendants d'une souche non cancéreuse. Sans doute d'autres facteurs interviennent ; et la région humide, l'habitat, la maison, qu'il s'agisse d'un taudis ou d'un palais, semble plutôt devoir être incriminée.

Avec les tumeurs de la souris tout se passe comme si dans les élevages il se trouvait quelque cause locale de contagion. C'est cette étude que je poursuis actuellement avec la collaboration de MM. Bridré, Nègre et Mlle Cernovodeanu, en orientant les recherches du côté de l'étude des ecto ou des endo-parasites de la souris qui eux seraient capables de faire l'inoculation que nous ne savons pas faire et capables d'atteindre ou de développer les cellules réceptrices du virus cancéreux.

Il est remarquable de voir que toujours ces tumeurs de la souris surviennent dans des élevages horriblement mal tenus, sales, remplis de vermine, puces, ascariens variés et surtout punaises ; la punaise me paraît actuellement pouvoir être un facteur important parce que des parasites de ce genre sont presque toujours constatés dans les cages cancéreuses et que les punaises habitant ces élevages contaminés sont elles-mêmes souvent parasitées, par des acariens et qu'elles peuvent transporter ces parasites de souris à souris dans les cages.

Il serait important que les observateurs ayant à leur disposition des élevages cancéreux confirment ou infirment ces données.

D'autre part, l'étude au microscope des tumeurs de la souris, tumeurs spontanées, jeunes, prélevées aussitôt que visibles et coupées totalement, m'a souvent montré des réactions phagocytaires, des abcès constitués au centre du néoplasme et dans lesquels il était souvent possible de reconnaître des débris chitineux provenant d'un gros parasite : Une fois un acarien dans un épithélioma des glandes sébacées et deux fois un helminthe dans des adéno-carcinomes de la mamelle. Dans un cas, j'ai constaté la présence d'un petit nématode tout à fait intact, et dans une tumeur à peine grosse comme un grain de plomb. Cette dernière observation, toute récente, m'a beaucoup frappé parce que je trouvais précisément dans les coupes ce que j'y cherchais. La fréquence de l'infection vermineuse chez les souris à

tumeurs à Paris est tout à fait remarquable. S'agit-il simplement d'une coïncidence? Rien n'est moins sûr et j'insiste beaucoup sur la recherche de ces parasites qui peut être faite dans d'autres élevages cancéreux. Cette recherche, pour être réalisée dans les meilleures conditions, doit porter sur des tumeurs très jeunes, très petites et coupées totalement ; elle doit être faite aussi dans les différents organes de la souris ; elle demande beaucoup de patience et un nombre illimité de coupes en série.

J'ai essayé, jusqu'ici sans succès, de réaliser l'infection directe de souris cancéreuses à souris saines par les excréments, et ces expériences sont toujours poursuivies. Négatifs aussi les essais d'infection par cohabitation, négatifs encore les essais de contamination par des excréments variés. Peut-être le parasite supposé, apportant le virus cancéreux dans la mamelle, a-t-il besoin d'un hôte intermédiaire? Peut-être a-t-il besoin d'être inoculé par un acarien, qui serait lui-même convoyé par la punaise? Le champ des hypothèses est illimité, mais ces hypothèses appellent des expériences, on peut donc en parler ; elles peuvent donner une idée de la complexité possible des conditions à réaliser par l'expérimentateur : dans les élevages cancéreux ces conditions se trouvent spontanément réalisées.

J'ai rapporté ailleurs deux observations de tumeurs à helminthe chez le rat : Cyst. de Toenia crassicola, trouvé au centre de la tumeur dans un sarcome du foie et aussi dans un adéno-carcinome du rein. Regaud a signalé deux cas du même genre. Brumpt m'a montré plusieurs adénomes de l'intestin causés incontestablement par des helminthes et sur une préparation de tumeur de l'intestin chez le rat, que me montrait le professeur Bashford, il fut aussi trouvé un cestode.

En tenant compte de la difficulté de ces recherches microscopiques, des cas nombreux ou le parasite initial peut avoir disparu, — l'inoculation une fois faite — les faits positifs actuels sont assez nombreux pour que l'hypothèse mérite d'être prise en considération. Elle doit surtout être envisagée en présence du nombre vraiment extraordinaire des cas de cancer du tube digestif et de ses annexes chez l'homme : 60 0/0 de la mortalité totale par cancer.

Il est permis de penser, pour les cancers du tube digestif chez l'homme, à quelque infection vermineuse d'origine alimentaire, à quelque larve, à quelque parasite venu de l'eau ou des aliments souillés par les fumiers ou l'épandage. La prudence voudrait, semble-t-il, que radis, salades, fraises et tous aliments crus souillés par des fumiers soient tenus en suspicion par les personnes qui redoutent le cancer et qui approchent de la quarantième année. Ce n'est malheureusement là encore qu'une hypothèse.

Ce qu'il y a de certain c'est que chez l'homme, en particulier dans les cancers internes, la détermination exacte de la cause initiale ne sera pas facile à saisir et à mettre en évidence : les cas de tout premier début, les seuls intéressants, ne seront jamais que des trouvailles d'autopsie.

Chez l'homme il sera peut être plus facile d'étudier au même point de vue le cas de début dans le tégument externe ou sur les muqueuses, et quelques cas que j'ai observés pourraient plaider en faveur de l'hypothèse d'un acarien, agent possible de l'inoculation. J'ai observé par exemple un épithé-

lioma de la face développé chez une femme de 40 ans, il s'agissait d'une tumeur qui avait à peine 1/2 millimètre de diamètre, microscopique au vrai sens du mot, développé aux dépens des follicules pileux de la région. Sur les coupes, les follicules centraux sont déjà cancéreux, tandis qu'à la périphérie, dans la zone d'extension se voient les follicules en voie de transformation cancéreuse, bien distincts des follicules encore sains : des larves d'acariens se trouvent dans les follicules à la périphérie de la tumeur et ne se trouvent que là. Un pareil processus et de pareilles coupes ne peuvent pas être expliqués par une théorie purement cellulaire. Il est certain que le rôle étiologique de l'acarien peut être discuté; on ne manquera pas d'objecter qu'il s'agit peut-être d'une coïncidence banale et des parasites normaux de la peau humaine. Évidemment la constatation microscopique ne suffit pas et je veux seulement enregistrer le fait sans avoir la prétention de généraliser.

D'ailleurs ecto-parasites ou endo-parasites ne peuvent pas être les seules causes étiologiques à envisager dans le problème du cancer. L'éclectisme est de mise, il est dans le sujet lui-même; ce n'est pas le cancer que nous avons à étudier, mais les tumeurs cancéreuses; chaque type de tumeur devra être étudié à part et peut avoir une étiologie particulière.

Un seul fait paraît certain : les différentes formes du cancer ne sont pas directement transmissibles d'homme à homme, d'animal à animal. La contagion du cancer ne peut être qu'une contagion indirecte. Les observations cliniques, et l'on ne saurait trop en tenir compte, montrent que toujours il faut admettre la nécessité d'une lésion préexistante de la région ou de l'organe, la formation de *cellules réceptrices* capables de devenir cancéreuses. Les exemples probants de cancer développé sur les nævi, sur les lésions du *xeroderma pigmentosum* prouvent que ces cellules peuvent exister normalement chez certains individus. Les cancers apparaissant sur les brûlures, sur des radio-dermites, les cancers de fumeurs, les cancers des syphilitiques démontrent que ces cellules réceptrices peuvent apparaître ou se constituer sous des influences diverses, peut-être par simple association microbienne : l'étiologie du cancer ne saurait être univoque.

Telle est à mon avis la conception que l'on peut avoir actuellement du problème étiologique du cancer, en reconnaissant que les conditions de l'inoculation spontanée et les virus qui interviennent restent dans presque tous les cas à l'état d'hypothèse et de possibilité. Espérons que grâce à de nouvelles recherches peu à peu se déchirera le voile noir qui nous cache le mystère des tumeurs cancéreuses.

Diagnostic microscopique de la trypanosomiase humaine.

VALEURS COMPARÉES DES DIVERS PROCÉDÉS

Par le Dr Gustave MARTIN et le Dr LEBOEUF

Le diagnostic microscopique de la trypanosomiase humaine peut se faire pratiquement en examinant trois liquides de l'organisme : le sang périphérique, la lymphe des ganglions superficiels et le liquide céphalo-rachidien. Nous exposerons d'abord les résultats obtenus en recherchant *T. gambiense* dans ces divers liquides, puis en comparant l'une à l'autre les différentes méthodes d'examen au double point de vue de la facilité de la découverte des parasites et de la commodité de leur emploi chez les indigènes, nous chercherons à déterminer à laquelle, selon nous, doit être accordée la préférence.

Nous examinerons ensuite quelle peut être l'importance des données fournies par : 1° l'étude des éléments figurés du sang et du liquide céphalo-rachidien et 2° l'auto-agglutination des hématies.

Nos diverses investigations ont porté sur un total de 258 individus trypanosomés, examinés les uns au laboratoire de Brazzaville, les autres au cours de tournées dans l'Alima, le Congo, le Bas, le Moyen et le Haut-Oubanghi, ainsi que sur la route des Caravanes (route de Brazzaville à Loango).

I

RECHERCHE DU *T. gambiense* DANS LE SANG PÉRIPHÉRIQUE

Cette recherche peut s'effectuer de deux façons, soit par examen direct entre lame et lamelle, soit en centrifugeant du sang recueilli à une veine du pli du coude.

A. *Examen direct du sang.* — Depuis l'époque où, pour la première fois, le Dr Forde vit des trypanosomes dans le sang périphérique, l'examen direct a été pratiqué par tous les observateurs pour le diagnostic de la maladie du sommeil. Nous n'insisterons pas sur les premiers résultats obtenus par Dutton, Todd, Manson, Broden, Brumpt et Baker ; nous rappellerons que le rapport de l'expédition anglaise de l'Etat indépendant du Congo (Mémoire XVIII, Ecole de médecine tropicale de Liverpool), donne le chiffre de 13,6 0/0 comme pourcentage des cas où le parasite se rencontre dans le sang circulant. C'est un chiffre fort inférieur à celui que nous avons obtenu chez les malades qui se sont soumis à notre examen au Congo français.

Nous procédons comme il suit : la pulpe d'un doigt du patient est rigoureusement nettoyée à l'alcool et soigneusement séchée, puis piquée avec une aiguille flambée. La goutte de sang obtenue par expression de la pulpe est immédiatement recueillie entre une lame et une lamelle qui doivent être dans un état de propreté absolue. La préparation est examinée avec l'objectif n° 7 à sec et l'oculaire compensateur n° 4 de Stiassnie, combinaison qui fournit un grossissement de 276 diamètres. Il est indispensable de faire usage d'une platine mobile graduée, afin de passer méthodiquement et sûrement en revue le plus grand nombre possible de champs dans un temps déterminé sans courir le risque de revenir sur un coin déjà vu de la préparation. La durée de l'examen a été en moyenne de 10 minutes par lame. Nous n'avons, en outre, fait qu'une préparation par malade, sauf dans 6 cas où nous nous sommes départis de cette manière de procéder pour la raison suivante :

Ayant remarqué bien souvent, au laboratoire, que le sang prélevé à une oreille d'un animal trypanosomé ne présentait que de très rares parasites ou même pas du tout, alors que le sang de l'oreille opposée en laissait voir de très nombreux, l'idée nous est venue d'examiner les préparations faites avec deux gouttes de sang prélevées, l'une à un doigt de la main gauche, l'autre à un doigt de la main droite. Sur 6 individus examinés de la sorte dans un même village, nous trouvâmes 4 fois des trypanosomes, alors que l'examen d'un seul doigt ne nous avait donné aucun résultat positif. Nous n'avons ainsi procédé que sur les tout derniers malades examinés, nous ne

pouvons donc, étant donné leur faible nombre, nous étendre plus longuement sur les avantages que pourrait offrir ce *modus operandi*.

Notre résultat général est le suivant : sur 217 individus reconnus infectés, nous avons trouvé 81 fois le *T. gambiense* à l'examen direct du sang, soit dans 37,78 0/0 des cas.

Envisagés relativement au nombre des parasites existant dans les préparations, ces 81 cas se décomposent comme il suit :

Trypanosomes..........	Très rares........................	23
—	Rares............................	25
—	Non rares........................	15
—	Assez nombreux...................	10
—	Nombreux.........................	6
—	Très nombreux....................	2
	Total égal.......................	81

Ce qui nous donne en rapportant à 100 les chiffres précédents :

Trypanosomes..........	Très rares..............	28.39	0/0
—	Rares...................	30.86	—
—	Non rares...............	18.52	—
—	Assez nombreux..........	12.35	—
—	Nombreux................	7.41	—
—	Très nombreux...........	2.47	—
		100.00	

Ce tableau nous montre que les trypanosomes ont été au moins « assez nombreux » dans 22,23 0/0 des cas où nous les avons observés.

Il était intéressant de rechercher quelles pouvaient être les variations dans la présence des parasites dans le sang circulant avec l'âge de la maladie. A cet effet, nous avons divisé nos individus trypanosomés en trois catégories. La première que nous avons classée sous l'étiquette « Cas cliniques », comprend les malades chez lesquels le diagnostic s'impose en dehors de tout examen microscopique. La deuxième se compose de ce que nous appelons les « cas suspects » et renferme les trypanosomiasiques ne présentant avec netteté aucun des symptômes de la maladie. Enfin, dans les « cas en bon état », nous avons rangé les sujets chez lesquels aucun symptôme, si minime fût-il, ne pouvait, bien qu'il fussent parasités, faire songer à l'existence de l'affection.

39,36 0/0 des sujets de la première catégorie, 30,13 0/0 des sujets de la seconde, et 44 0/0 des sujets de la troisième (voir

le tableau V pour le détail des nombres d'examens et de résultats positifs), ont présenté des trypanosomes. Il semblerait donc que c'est chez les sujets en état apparent de bonne santé que les parasites sont le plus facilement décelables à l'examen direct du sang périphérique.

Quatre Européens entrent en ligne de compte dans les pourcentages précédents : chez trois d'entre eux le T. gambiense a été constaté à l'examen direct du sang. Sur 3 autres malades européens, examinés par des collègues des troupes coloniales, depuis notre arrivée au Congo, le parasite a été trouvé chez chacun d'eux par cette méthode. Il est des plus intéressant de constater que, sur un total de 7 malades européens, l'examen du sang périphérique entre lame et lamelle a permis de déceler 6 fois la présence de l'agent pathogène.

Notre chiffre de pourcentage général serait d'ailleurs une évaluation plutôt un peu faible des résultats que l'on peut obtenir par cette méthode, si simple et si commode, puisque l'un de nous, au cours d'une tournée dans l'Oubanghi, a obtenu le chiffre de 43,95 0/0.

Chez un de nos cas européens, l'examen du sang provenant d'une petite plaque d'érythème[1] a révélé des trypanosomes « assez nombreux ». Bien souvent nous avons pris du sang au niveau d'éruptions diverses, relevées sur les téguments de nos malades indigènes, sans que nous ayons pu constater que les trypanosomes fussent plus facilement décelables dans les préparations ainsi obtenues que dans celles provenant de la pulpe du doigt.

Enfin nous observerons que nous avons rencontré fort souvent, au cours de nos examens de sang, des filaires avec gaine ou sans gaîne, sur la nature desquelles nous ne nous étendrons pas davantage. Nous les avons trouvées chez 47,92 0/0 de nos malades. Nos observations à ce sujet coïncident d'une manière presque absolue avec celles de Brumpt[2].

B. *Centrifugation du sang.* — Dans les premiers temps de notre séjour au Congo nous avions employé le procédé de Bruce et Nabarro, qui consiste à soumettre 10 c. c. de sang provenant

1. V. Nattan-Larrier et Tanon, Valeur des érythèmes dans la fièvre trypanosomiasique. *C. R. Soc. biologie*, LX, 23 juin 1906.

2. Brumpt, *Comptes rendus Soc. biol.*, 7 mai 1904.

d'une veine du pli du coude et mélangé d'un peu de citrate de soude, à quatre centrifugations successives de 10 minutes chacune et à examiner le quatrième sédiment. N'ayant obtenu par cette méthode que des résultats assez médiocres, nous pensâmes que la plus grande partie des trypanosomes devait se trouver éliminée au cours des premières centrifugations et nous cherchâmes une technique qui permît de les réunir à peu près tous dans un sédiment peu abondant où l'on pût facilement les rechercher.

Nous nous sommes définitivement arrêtés au procédé suivant :

Nous opérons sur 10 c. c. de sang prélevés à une veine du pli du coude; ce prélèvement constitue d'ailleurs une opération des plus simples, des plus bénignes et des plus rapides. Comme matériel, une bande de coton de 2 ou 3 mètres de long sur 4 à 5 centimètres de largeur, une aiguille en platine iridié de 5 centimètres de long et de 65,5 0/0 de millimètre de diamètre intérieur, un tube à sédimentation d'une propreté parfaite, une solution de citrate de soude à 20 0/0 dans l'eau distillée physiologique.

On place un petit bandage compressif sur un bras (le droit de préférence, les veines y étant en général plus apparentes que du côté gauche) à quelques centimètres au-dessus du pli du coude que l'on aseptise soigneusement.

L'aiguille de platine, que l'on stérilise au moment de l'usage, en la passant au rouge dans la flamme d'une lampe à alcool, est tenue de la main droite et enfoncée directement dans la veine la plus saillante; le pouce et l'index de la main gauche tendent la peau sur le vaiseau à ponctionner : l'axe de l'aiguille doit faire un angle aussi faible que possible avec la surface cutanée. Le sang qui s'écoule par la canule de l'aiguille est recueilli directement dans le tube à sédimentation que l'on a préalablement garni de 1 c. c. de la solution citratée.

On prélève de la sorte 10 c. c. de sang qui sont alors soumis à trois centrifugations successives.

α) La première, qui constitue le temps délicat de l'opération, car c'est d'elle que dépend le succès de l'examen final, doit être surveillée de fort près : elle a pour but d'établir une séparation entre la plus grande partie des globules rouges et le plasma renfermant, avec les globules blancs, les hématoblastes, les trypanosomes et les filaires. Cette centrifugation, suivant le nombre d'hématies contenues par millimètre cube, a une durée variable de 8 à 12 minutes environ : elle n'est plus longue que très exceptionnellement. A partir de la 7e minute au plus tard, il faut vérifier l'état du tube toutes les 60 secondes et arrêter la centrifugation dès que la séparation en deux couches à peu près distinctes est faite. On obtient les meilleurs résultats quand il flotte encore dans le plasma quelques très légers nuages de globules rouges. Cette centrifugation est opérée avec le

centrifugeur Krauss à deux vitesses marchant à 1,500 tours par minute, soit 65 tours de la manivelle placée sur l'axe « urine ».

β) On décante avec soin toute la couche supérieure que l'on recueille dans un deuxième tube à sédimentation rigoureusement nettoyé et l'on centrifuge pendant dix minutes à la même vitesse que pour la 1re centrifugation. On obtient ainsi un sédiment dans lequel se trouvent contenus, avec la majorité des globules blancs, une certaine quantité d'hématies, la plus grande partie des filaires ou même toutes les filaires, des hématoblastes et parfois déjà de rares trypanosomes (ce fait se produit toujours quand les parasites sont très nombreux dans le 3e sédiment).

γ) Tout le liquide provenant de cette deuxième centrifugation est décanté et recueilli dans un nouveau tube à sédimentation, puis centrifugé, toujours à 1,500 tours, pendant 20 minutes. Le sédiment, fort peu volumineux, renferme quelques leucocytes, de rares hématies, tous les hématoblastes et les trypanosomes restés en suspension dans le plasma après la deuxième centrifugation, enfin quelques filaires lorsqu'elles sont particulièrement abondantes dans le deuxième sédiment.

Nous insistons tout particulièrement sur la nécessité de ne faire usage, au cours de ces différentes opérations, que de tubes à sédimentation d'une propreté absolue. Nous ne faisons en général qu'un examen entre lame et lamelle avec le sédiment provenant de la troisième centrifugation. Dans 10 cas seulement sur 75 (ces 10 cas correspondent aux trypanosomes « très rares » de notre pourcentage), nous avons regardé 2 lamelles. Jamais nous n'avons procédé à un plus grand nombre d'examens, jugeant assez satisfaisants les résultats obtenus et voulant avant tout conserver à notre méthode son caractère pratique.

Alors que, dans l'État indépendant du Congo, Dutton et Todd, sur 17 centrifugations, ont obtenu 8 résultats positifs, soit un pourcentage de 47 0/0, sur 75 centrifugations effectuées suivant les indications précédentes, nous avons 69 résultats positifs, soit un pourcentage de 92 0/0. La richesse des préparations en parasites se trouve exprimée dans le tableau ci-dessous :

Trypanosomes..........	Très rares............	14.49	0/0
—	Rares..................	17.38	—
—	Non rares	11.50	—
—	Assez nombreux	16.07	—
—	Nombreux.............	20.28	—
—	Très nombreux.........	20.28	—
		100.00	

Par ce procédé les parasites sont donc au moins « assez nombreux » dans 56,63 0/0 des centrifugations suivies de succès, c'est assez dire combien leur recherche est en général facile dans le troisième sédiment.

Enfin cette méthode, en isolant la majeure partie des filaires dans le sédiment provenant de la deuxième centrifugation, permet non seulement de décéler la présence de ces parasites alors qu'ils avaient échappé à l'examen direct, mais encore de trouver des filaires à gaine alors que les premières investigations n'avaient révélé que des filaires sans gaîne ou inversement.

La proportion des cas de filariose observés chez les trypanosomiasiques a été de 47,97 0/0 à l'examen direct. Chez les individus dont le sang a été soumis à la centrifugation cette proportion est montée à 86,66 0/0.

Si nous voulons nous rendre compte de la valeur de la méthode aux différentes époques de la maladie, nous trouvons des chiffres du même ordre que ceux que nous avons obtenus avec l'examen direct du sang. En effet (voir tableau V), les « cas en bon état » nous ont fourni 100 0/0 de succès, les « cas cliniques » 92,30 0/0 et les « cas suspects » 90 0/0. Il se confirmerait donc ici que c'est chez les malades en état apparent de bonne santé que les parasites sont le plus facilement décelables dans le sang circulant.

En considérant, ainsi que l'ont fait Dutton et Todd, comme positifs pour la centrifugation, les cas où les trypanosomes furent rencontrés à l'examen direct du sang, nous arrivons au chiffre général de 96,15 0/0 pour le « sang total ».

Et en décomposant nous avons (Voir tableau V) :

Pour les cas cliniques	96.05	0/0
— cas suspects	94.23	—
— cas en bon état	100.00	—

II

RECHERCHE DU *T. gambiense* DANS LA LYMPHE EXTRAITE DES GANGLIONS SUPERFICIELS

Nous nous sommes conformés en tous points, pour le prélèvement de la lymphe ganglionnaire, aux minutieuses indications de la technique exposée par Dutton et Todd. (Mémoire XVIII, École de médecine tropicale de Liverpool.) Nous avons pratiqué de

la sorte, sur 216 individus trypanosomés, le « diagnostic ganglionnaire complet ». Nous voulons dire par là que les individus de cette catégorie qui ont été classés comme n'ayant pas de trypanosomes dans la lymphe ganglionnaire, ne le furent qu'après examen approfondi des groupes ganglionnaires ponctionnables (sauf les sous-maxillaires qui ont été étudiés à part). Avant de conclure à la négative, chaque groupe ganglionnaire a été l'objet de ponctions répétées donnant lieu à des préparations parfaites.

Nos pourcentages ont été établis sans que nous ayons, en général, procédé à des examens renouvelés pendant plusieurs jours de suite et cela pour deux raisons : 1° Tout d'abord, c'est qu'un indigène ayant subi l'examen de tous ses groupes ganglionnaires avec plusieurs ponctions pour chacun d'eux, se serait en général prêté de la plus mauvaise grâce à une deuxième séance de cette nature et aurait certainement pris la fuite. 2° Ensuite, si nous avions ainsi opéré, nous n'aurions pu, en bonne logique, procéder à une comparaison rigoureuse de l'efficacité et de la valeur absolue des méthodes mises en présence. En effet, en examinant des malades plusieurs jours de suite au point de vue ganglionnaire, le pourcentage de la présence des trypanosomes dans la lymphe se serait légèrement élevé, et les résultats n'eussent plus été comparables. Il eût fallu repratiquer aussi les mêmes jours les divers modes d'examen du sang (dont les pourcentages se seraient aussi de cette façon sensiblement élevés), ainsi que la ponction lombaire, ce qui est pratiquement impossible quand on a comme sujets d'étude des indigènes sur lesquels, malgré tous les raisonnements possibles appuyés de cadeaux, il est déjà bien difficile de faire un premier examen complet.

Tableau I

Ganglions	Sous-maxillaires.	Cervicaux.	Axillaires.	Epitrochléens	Inguinaux
Nombre de malades ponctionnés.......	39	196	72	68	120
Résultats positifs....	27	145	31	34	69
Pourcentage........	69,23 0/0	73,97 0/0	0	50 0/0	57 0/0

En opérant de la sorte nous avons obtenu le résultat général suivant : sur 216 malades, 197 ont été trouvés porteurs de trypanosomes dans la lymphe ganglionnaire, soit une propor-de 91, 20 0/0.

En thèse générale, les parasites sont plutôt rares dans la lymphe extraite des ganglions superficiels, et bien souvent, pour les y trouver, nous avons passé plus de temps sur les préparations ainsi obtenues que sur les lames de sang étudiées à l'examen direct. En classant les trypanosomes suivant l'échelle de fréquence habituelle et en reportant à 100 les chiffres obtenus nous avons en effet le tableau suivant :

Trypanosomes	très rares	23.82 0/0
—	rares	28.90 0/0
—	non rares	19.93 0/0
—	assez nombreux	14.45 0/0
—	nombreux	6.25 0/0
—	très nombreux	6.25 0/0
		100.00

Nous voyons ainsi que les Trypanosomes ne sont du moins « assez nombreux » que dans 27,35 0/0 des ganglions parasités, alors qu'ils sont au plus « non rares » dans 72,65 0/0 de ces organes.

L'âge de la maladie semble peu influer sur la présence ou la non présence des flagellés dans les ganglions. Les pourcentages (voir tableau V) des résultats positifs sont en effet.

Pour les cas cliniques	89.87 0/0
Pour les cas suspects	92.76 0/0
Pour les cas en bon état	90.56 0/0

Les trypanosomes seraient peut-être un peu moins fréquents dans les premiers que dans les troisièmes, mais les chiffres sont tellement voisins l'un de l'autre qu'il serait téméraire d'en vouloir tirer une conclusion précise.

Il était intéressant de rechercher si, chez un même malade, les trypanosomes coexistaient dans les divers groupes ganglionnaires. C'est ce que nous avons essayé d'établir d'après les observations de 42 malades chez lesquels les quatre groupes ganglionnaires principaux (cervicaux, axillaires, épitrochléens et inguinaux) avaient pu être tous ponctionnés (voir tableau II). Après avoir reporté à 100 les nombres trouvés pour les résultats positifs nous avons obtenu :

Trypanosomes présents dans les ganglions cervicaux........ 80.95 0/0
— — — — axillaires......... 57.14 0/0
— — — — épitrochléens 54.76 0/0
— — — — inguinaux....... 69.04 0/0

C'est dans les ganglions cervicaux que se rencontrent le plus fréquemment les trypanosomes, puis viennent les inguinaux, et enfin, fort en arrière, les axillaires et les épitrochléens.

TABLEAU II

	Cervicaux.	Axillaires.	Epitrochléens.	Inguinaux.
Les quatre groupes ganglionnaires ont été ponctionnés chez 42 malades.				
Résultats positifs.	34	24	23	29
Pourcentage......	80,95 0/0.	57,14 0/0	54,76 0/0	69,04 0/0

Si nous faisons les pourcentages des résultats positifs obtenus avec tous les ganglions ponctionnés chez nos malades nous trouvons (voir tableau I) les chiffres suivants :

Trypanosomes présents dans les ganglions cervicaux........ 73.97 0/0
— — — — axillaires........ 43.55 0/0
— — — — épitrochléens 50 0/0
— — — — inguinaux........ 57.50 0/0

Ces chiffres sont absolument du même ordre que les premiers, du moins en ce qui concerne les ganglions cervicaux et inguinaux qui tiennent toujours la tête, surtout les cervicaux. Il y a bien eu inversion de la formule pour les ganglions axillaires et épitrochléens, mais ces deux groupes ont toujours des pourcentages assez fortement inférieurs aux inguinaux et c'est là le point important.

Les nombres précédents représentent un maximum de rendement pour la méthode de la ponction ganglionnaire. En effet, bien souvent les ganglions engorgés sont de trop faibles dimensions pour pouvoir être ponctionnés et, dès lors, le procédé ne pouvant être appliqué, chaque fois que ce fait se produit correspond en somme, dans la pratique à un résultat négatif.

Nous avons donc pensé qu'il pouvait y avoir quelque intérêt à déterminer dans quelle mesure on pouvait ponctionner les ganglions chez nos malades. Nous avons obtenu (voir tableau III) comme pourcentage des ganglions ponctionnables.

Ganglions sous-maxillaires	86.66 0/0
— cervicaux	85.59 0/0
— axillaires	63.15 0/0
— épitrochléens	54.40 0/0
— inguinaux	84.50 0/0

Nous avons employé à dessein le terme de ganglions cervicaux dans toute cette étude, et non celui de ganglions cervicaux postérieurs, car ces derniers sont très fréquemment trop petits,

TABLEAU III

GANGLIONS	Sous-maxillaires.	Cervicaux.	Axillaires.	Epitrochléens	Inguinaux
Groupes ganglionnaires notés	45	229	114	125	142
Groupes ganglionnaires ponctionnables	39	196	72	68	120
Pourcentage des ganglions ponctionnables	86,66 0/0	85.59 0/0	63,15 0/0	54,40 0/0	84,50 0/0

trop mobiles et trop profonds pour pouvoir être ponctionnés et l'on est obligé, pour recueillir de la lymphe, d'avoir recours aux groupes cervicaux latéraux. Nous avons donc groupé les ganglions cervicaux latéraux sous l'étiquette « ganglions cervicaux ». Nous aurons d'ailleurs à revenir sur cette question quand nous traiterons de la valeur de l'hypertrophie ganglionnaire comme signe clinique de l'hypnosie.

Nous avons très fréquemment rencontré des ganglions sous-maxillaires chez nos malades. Leur volume, qui, d'après Dutton et Todd eux-mêmes, peut dépendre de tout autre cause que d'une irritation produite par la présence des Trypanosomes, est généralement remarquable. Nous avons ponctionné 39 de ces ganglions avec un succès assez notable, puisque nous avons eu 27 résultats positifs, soit une proportion de 66, 23 0/0, ce qui (voir tableau I) placerait les ganglions sous-maxillaires

entre les inguinaux et les cervicaux, immédiatement après ceux-ci.

Il est un fait dont nous avons été vivement frappés et sur lequel il nous a paru nécessaire d'insister quelque peu; c'est que l'existence des trypanosomes dans la lymphe des ganglions superficiels est soumise à des variations du même ordre que leur présence dans le sang périphérique. Autrement dit les parasites peuvent, dans le suc ganglionnaire, apparaître ou disparaître sans raisons nettement déterminées. Chez quelques malades dont, par curiosité, nous suivions l'existence des trypanosomes dans un groupe ganglionnaire, nous avons pu constater que des ganglions renfermant des flagellés « assez nombreux » ou même « nombreux » pouvaient se trouver, du jour au lendemain, absolument vierges de tout parasite ou inversement. Voici deux exemples typiques dans le deuxième ordre d'idées :

M. M., fillette, 10 ans. — Les ganglions cervicaux postérieurs, ponctionnés les 29, 30 et 31 mars 1907, ne présentèrent de trypanosomes à aucune de ces dates. Le 1er avril au matin, les mêmes ganglions laissèrent voir de « Nombreux » parasites, qui dans l'après-midi, au cours d'une nouvelle ponction, se montrèrent seulement non rares.

C. M., fillette, 10 ans. — Le 17 mai 1907, la ponction des ganglions cervicaux postérieurs, plusieurs fois répétée, ne révélait la présence d'aucun trypanosome ; le 18 mai, les mêmes ganglions laissaient voir le plus facilement du monde des parasites nombreux.

Notons que nous avons trouvé dans la lymphe ganglionnaire des filaires avec gaine ou sans gaine, mais très peu fréquemment.

Nous remarquerons enfin, au point de vue technique, qu'à grosseur égale, c'est sur les ganglions épitrochléens que la ponction se fait avec le plus de facilité.

III

RECHERCHE DU *T. Gambiense* DANS LE LIQUIDE CÉPHALORACHIDIEN.

Nous avons suivi les techniques couramment employées dans les hôpitaux et les laboratoires, pour la prise du liquide céphalorachidien et la formation par centrifugation du sédiment à examiner. Nous insisterons seulement sur la nécessité *absolue* qu'il y a de tenir renversé et bien vertical le tube à sédimentation, tandis que l'on recueille le dépôt avec une pipette fine. Les

trypanosomes y sont en effet quelquefois fort rares, et la moindre goutte de liquide montant dans la pipette avec les corps microscopiques centrifugés et venant ainsi diluer la prise, rendrait la recherche des parasites infiniment plus délicate.

Dans tous les cas, nous avons soumis à la centrifugation 10 c. c. de liquide céphalo-rachidien pendant une durée de un quart heure.

Nous avons pratiqué de la sorte 105 ponctions lombaires et avons eu 74 résultats positifs, soit une proportion de 70,47 0/0 de succès.

Le pourcentage des cas positifs subit de grandes variations suivant que la maladie est plus ou moins avancée. En effet, (voir tableau V pour le détail des nombres d'examens et de résultats positifs), en passant en revue nos différentes catégories de malades nous avons les proportions suivantes de succès :

Cas cliniques	83.33 0/0
Cas suspects	53.12 0/0
Cas en bon état	28.57 0/0

La conclusion qui s'impose est que les parasites se rencontrent beaucoup plus fréquemment dans le liquide céphalo-rachidien des malades arrivés à la dernière période que chez les sujets encore au début de leur affection. Sur 16,67 0/0 de nos malades avancés nous n'avons pas trouvé de Trypanosomes par cette méthode, bien qu'il y eût souvent un sédiment abondant et malgré les recherches les plus minutieuses. En voici quelques exemples :

Tchiconyonia. — Femme, environ 28 ans. — Cas clinique. — Liquide céphalo-rachidien transparent. — Faible sédiment. — Pas de Trypanosomes.

Ballondo. — Homme, environ 20 ans. — Cas clinique. — Liquide céphalo-rachidien limpide. — Très faible sédiment. — Pas de Trypanosomes.

Boueya. — Homme, environ 24 ans. Cas clinique. — Liquide céphalo-rachidien limpide. — Très faible sédiment. — Pas de Trypanosomes..

Emile Moko. — Homme, environ 24 ans. — Cas clinique. — Liquide légèrement opalescent. — Sédiment abondant. — Pas de Trypanosomes.

Si nous considérons l'ensemble de 74 cas positifs relativement au nombre de Trypanosomes contenus dans les préparations faites avec le sédiment, il nous apparaît qu'en général les parasites y sont plutôt abondants. Nous trouvons en effet :

Trypanosomes........	Très rares..............	13.54	0/0
—	Rares....................	8.10	—
—	Non rares................	14.86	—
—	Assez nombreux...........	22.97	—
—	Nombreux.................	22.97	—
—	Très nombreux............	17.56	—

Les Trypanosomes sont donc au moins « assez nombreux » dans 63,50 0/0 et au plus « non rares » dans 36,50 0/0 des cas positifs.

Il est certain qu'en général ils sont plus abondants dans le liquide céphalo-rachidien des malades avancés, mais c'est là un point qui est sujet à de nombreuses exceptions. On peut parfaitement ne rencontrer que de « très rares » parasites chez des sujets très avancés ou même arrivés au terme ultime de la maladie, alors que l'on en observe parfois de nombreux chez des gens simplement suspects, chez lesquels il est impossible de poser cliniquement un diagnostic certain. Nous pourrions multiplier les exemples comme les deux suivants :

N' Goma 2. — Homme. — Emaciation extrême. — Somnolence continue. — Incontinence des urines et des matières fécales. — A l'examen direct du sang, trypanosomes nombreux dans toute l'étendue de la préparation (29 nov. 06). Liquide céphalo-rachidien transparent comme de l'eau de roche : sédiment imperceptible, T. gambiense = très rares. — Mort le 30 novembre 1906.

Kiamba. — Femme. — Cliniquement atteinte. — Ponction lombaire le 2 mars 1907. — Liquide légèrement louche, sédiment abondant : T. gambiense = Très rares. Morte le 30 mars 1907.

Les parasites étaient « très rares » dans le liquide céphalo-rachidien des 2 individus trouvés porteurs de Trypanosomes, sur les 7 malades en état apparent de bonne santé sur lesquels nous avons pratiqué la ponction lombaire.

Nous ferons enfin remarquer que, sous la mention « très nombreux », nous avons classé des cas où les Trypanosomes étaient presque innombrables dans le sédiment. C'est ainsi que chez le nommé Mahmadou-Batchili (17 janvier 1907), il y en avait 15 à 20 par champ dans la préparation faite avec le sédiment; nous en avons compté jusqu'à 29 par champ dans les préparations provenant du liquide céphalo-rachidien du Loango Sombou. (22 janvier 1907.)

IV

VALEUR COMPARÉE DES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS DE RECHERCHE DU *T. Gambiense* CHEZ LES MALADES DU SOMMEIL

Pour établir un parallèle entre les diverses méthodes utilisées à cet effet, il faut d'abord déterminer deux points principaux :

A. — Quel est le procédé qui permet de découvrir les Trypanosomes :

α) Avec le maximum de certitude;

β) Dans le minimum de temps?

B. — Quel est celui que les indigènes subissent avec le minimum de récriminations?

TABLEAU IV

	Examen direct du sang.	Centrif. du sang.	Sang total.	Diag. gangl. complet.	Ponction lombaire.
Nombre d'examens..	217	75		216	105
Résultats positifs....	81	69		197	74
Pourcentages........	**37,78 0/0**	**92 0/0**	**96,15 0/0**	**91,20 0/0**	**70,47 0/0**

A. α). — Si nous considérons le tableau d'ensemble n° IV, la réponse à cette question semble s'imposer de prime abord. La centrifugation du sang seule nous donne en effet une proportion de cas positifs de 92 0/0 ; on obtient 91,20 0/0 avec le diagnostic ganglionnaire complet. Si l'on y ajoute les résultats positifs obtenus par l'examen direct du sang, cas où la centrifugation a été inutile, le pourcentage des succès fournis par le sang atteint 96,15 0/0. C'est donc en pratiquant la centrifugation du sang que l'on a le maximum de chances pour rencontrer les parasites, puisque d'autre part le pourcentage de résultats positifs fournis par la ponction lombaire n'est que de 70,47 0/0, ce qui rejette ce procédé au troisième rang et loin derrière les deux autres.

Il importait de se demander si les résultats finaux étaient de même nature en considérant seulement les « cas suspects » et les « cas en bon état » au lieu d'envisager l'ensemble des

malades : car c'est en effet chez ces deux catégories de malades que le diagnostic microbiologique offre tout son intérêt. Le diagnostic ganglionnaire complet nous fournit (voir tableau V) respectivement les chiffres de 92,76 0/0 et 90,56 0/0, la méthode du sang ceux de 94,23 0/0 et de 100 0/0 ; donc ici encore la supériorité de cette dernière continue à s'affirmer;

TABLEAU V

Méthodes employées		Cas cliniques.	Cas suspects.	Cas en bon état.
Examen direct du sang.	Nombre d'examens......	94	73	50
	Résultats positifs.......	37	22	22
	Pourcentages.	**39,36 0/0**	**30,13 0/0**	**44 0/0**
Centrifugation du sang.	Nombre d'examens.......	39	30	6
	Résultats positifs.......	36	27	6
	Pourcentages.	**92,30 0/0**	**90 0/0**	**100 0/0**
Sang total.	Pourcentages.	**96,05 0/0**	**94,23 0/0**	**100 0/0**
Diagnostic ganglionnaire complet	Nombre de malades. ..	79	84	53
	Résultats positifs.......	71	78	48
	Pourcentages.	**89,87 0/0**	**92,76 0/0**	**90,56 0/0**
Ponction lombaire.	Nombre d'examens.......	66	32	7
	Résultats positifs.	55	17	2
	Pourcentages.	**83,33 0/0**	**53,12 0/0**	**28,57 0/0**

β) En nous plaçant maintenant au point de vue du temps dépensé, il est bien certain que si l'on trouvait des Trypanosomes dans la première ou la seconde lymphe obtenue, c'est la

méthode de laponction ganglionnaire qui serait pratiquement préférable, mais il ne faut pas oublier qu'il est loin d'en être toujours ainsi, que l'on est bien souvent obligé de faire plusieurs ponctions de divers groupes ganglionnaires; il faut songer aussi que les parasites sont rares dans 72,65 0/0 des examens positifs faits sur la lymphe extraite des ganglions superficiels et que, dans ces conditions, on peut être exposé à pratiquer deux heures, et même plus, d'examen continu sur un malade sans pouvoir lui trouver un Trypanosome.

Or, la centrifugation du sang n'exige, montre en main, que trois quarts d'heure de manipulations. De plus, au cours des diverses centrifugations, qui sont naturellement faites par un aide, le médecin peut se livrer à d'autres travaux, une fois la 1re centrifugation achevée, il n'a en effet à s'occuper du 2e sédiment que s'il veut se renseigner sur la présence des filaires chez son malade. Enfin l'examen du troisième sédiment se fait en général beaucoup plus rapidement que celui de la lymphe ganglionnaire, puisque les parasites n'y sont « très rares, » « rares » ou « non rares » que dans 43,37 0/0 des cas positifs.

Pratiquement c'est la ponction lombaire qui, dans la moyenne des cas, serait la méthode la plus rapide, mais ses résultats sont trop inconstants, surtout dans les « cas suspects» et les « cas en bon état », qui sont justement les points importants au point de vue qui nous occupe, pour que l'on s'y arrête davantage.

B. — La ponction lombaire inspire en général aux indigènes une insurmontable répugnance : elle paraît leur être extrêmement pénible, et, à quelques exceptions près, son exécution s'accompagne toujours de cris ou tout au moins de contorsions fort gênantes.

La ponction ganglionnaire est acceptée beaucoup plus facilement; mais elle est déjà quelque peu douloureuse. Quand elle a été faite deux ou trois fois, l'indigène congolais commence à récriminer, et, quand on lui a passé tous ses groupes ganglionnaires en revue, il serait bien difficile, pour ne pas dire impossible, de lui faire accepter une nouvelle séance pour le lendemain sans le voir s'en aller pour ne plus revenir.

La piqûre de la pulpe d'un doigt se fait presque toujours avec la plus grande facilité, sauf chez quelques individus

exceptionnellement nerveux qui ne s'y prêtent qu'en rechignant.

Quant à la ponction d'une veine du pli du coude, elle est en général supportée des indigènes avec au moins la même indifférence que la piqûre du doigt. L'aiguille pénètre la peau très mince du pli du coude et traverse les parois de la veine avec la plus grande facilité et la plupart du temps le sujet ne réagit que par un léger mouvement du bras, arrêté par un aide qui lui tient la main.

C'est donc ici encore à l'examen du sang que revient la première place, toutefois, comme il convient de ne pas négliger ce qu'a d'éminemment pratique la ponction ganglionnaire, quand une première ou une deuxième prise de lymphe (bien entendu parfaites) laissent voir des parasites, nous conseillons, dans la recherche des Trypanosomes chez un individu quelconque, de procéder de la façon suivante :

1° Examen sérieux (d'une durée de dix minutes) et systématique (avec une platine mobile graduée) d'une lamelle de sang provenant de la pulpe d'un doigt, ou de préférence de deux lamelles de sang provenant de deux doigts différents, l'un de la main gauche, l'autre de la main droite ;

2° Si ce premier examen est négatif et si le sujet possède des groupes ganglionnaires ponctionnables, lui faire deux ponctions ganglionnaires, en choisissant de préférence les ganglions cervicaux. Si ces derniers n'existent pas ou sont trop petits, aller aux sous-maxillaires ou aux inguinaux qui fournissent après eux le plus de succès ;

3° Si on n'a pu ainsi trouver de parasites, prendre 10 c. c. de sang à une veine du pli du coude et centrifuger ; examiner une ou, si besoin est, deux lamelles du 3e sédiment ;

4° Si à ce moment on n'a pas encore vu de Trypanosomes, l'individu observé à les plus grandes chances pour être rigoureusement sain, mais par acquit de conscience, et si le sujet y consent, il sera utile de recueillir par ponction lombaire 10 c. c. de liquide céphalo-rachidien et de les centrifuger durant 15 minutes.

C'est, à notre avis, en opérant de cette façon que l'on passera le temps minimum sur les individus à examiner et que l'on aura le maximum de chances pour découvrir leurs parasites, au cas où ils seraient infectés.

V

NUMÉRATION DES ÉLÉMENTS FIGURÉS DU SANG. — VALEUR DE LA FORMULE HÉMO-LEUCOCYTAIRE

La numération des éléments figurés du sang a été faite sur 22 malades. Le nombre trouvé pour les hématies, en faisant la moyenne des résultats obtenus pour ces 22 cas, est de 3,041,545 par millimètre cube.

Il y a donc en général forte diminution du nombre des globules rouges. D'ailleurs, sur nos 22 sujets d'étude, nous n'avons qu'un seul cas faisant exception à cette règle : celui de N'Goma I. La numération faite la veille de sa mort a donné le chiffre de 5,100,000 hématies par millimètre cube. Ce nombre représente la moyenne de deux prises de sang qui nous donnèrent des résultats absolument concordants : l'étonnement que nous avait causé le chiffre obtenu par la première numération nous avait en effet amené, comme vérification, à en faire une seconde. Le plus petit nombre que nous ayons observé a été de 1.735.000, chez une femme cliniquement atteinte, la nommée Tchiconyonia, morte d'ailleurs peu de temps après. Nous noterons en passant qu'il ne semble y avoir aucun parallélisme entre la diminution du nombre des globules rouges et la sévérité des symptômes observés.

Le nombre moyen des globules blancs (numérations faites sur les 22 mêmes sujets) est de 10,572 par millimètre cube. Les leucocytes se trouvent donc en général en plus grande quantité dans le sang de trypanosomiasiques que dans le sang normal, inversement à ce qui se produit pour les hématies. Ici encore il y a quelques exceptions à la règle et chez 4 de nos malades, le nombre des globules blancs s'est trouvé légèrement diminué; en tous cas les chiffres obtenus étaient fort voisins du chiffre normal généralement admis 6,000, ainsi que l'indique le tableau suivant :

Lamine-Camara	Cas clinique	5200
Yaya-Tako	Cas suspect	5700
Mahmadou-Batehili	Cas clinique	5800
Louléka	Cas clinique	5200

Les proportions respectives des différents leucocytes chez les malades du sommeil subissent des modifications encore plus importantes que leur nombre global, du moins en ce qui concerne certains d'entre eux. Aussitôt posé le diagnostic de Trypanosomiase, nous avons établi la formule hémo-leucocytaire de 35 individus et la moyenne des résultats obtenus nous a donné comme formule générale :

Polynucléaires	49,04 0/0
Lymphocytes	37,60 0/0
Grands mononucléaires	6,36 0/0
Eosinophiles	6,24 0/0
Formes de transition	0,76 0/0
	100,00 0/0

Les chiffres de 0,76 0/0 et de 6,36 0/0 obtenus respectivement pour les formes de transition et les grands mononucléaires sont normaux; ces éléments ne paraissent subir, au cours de la trypanosomiase humaine, que des variations insignifiantes. Le chiffre de 6.24 0/0. obtenu pour les éosinophiles, est notablement au-dessus de la normale. Dans la réalité des faits, il subit des variations considérables suivant les sujets : presque nulle chez les uns, la proportion d'éosinophiles s'est très notablement élevée chez certains de nos malades et chez le nommé Caïmba, elle a atteint 23,76 0/0. Voici d'ailleurs quelle était sa formule :

Polynucléaires	22,66 0/0
Lymphocytes	46,13 0/0
Grands mononucléaires	6,90 0/0
Eosinophiles	23,76 0/0
Formes de transition	0,55 0/0

Il est plus que probable que le T. gambiense n'a rien à voir dans la production de cette éosinophilie et qu'elle est sous la dépendance de la filariose qui, chez l'immense majorité de nos malades, marchait toujours de pair avec la trypanosomiase. En tout cas les filaires ne réagissent, dans cette hypothèse, sur cette classe de leucocytes, que de la façon la plus capricieuse. Certains malades, qui présentent de nombreuses filaires à l'examen direct du sang, ont un nombre d'éosinophiles normal ou même inférieur à la normale, alors que d'autres sujets, chez lesquels, avant toute numération. un simple coup d'œil jeté sur les préparations colorées de sang révèle une éosinophilie pro-

noncée, ne se classent comme filariens qu'après l'examen des sédiments obtenus par la centrifugation de leur sang : tel est d'ailleurs le cas de Caïmba dant nous venons de rappeler la formule.

En ce qui concerne les polynucléaires et les lymphocytes, il y a tendance, en général, à une inversion des rapports normaux : les polynucléaires neutrophiles diminuent, les lymphocytes augmentent. Il arrive même quelquefois que le nombre des polynucléaires neutrophiles tombe bien au-dessous de celui des lymphocytes. La formule de Caïmba en est un exemple, en voici quelques autres :

ÉSABÉ. — Cas clinique.

Polynucléaires	30.57 0/0
Lymphocytes	51.49 —
Grands mononucléaires	8.80 —
Éosinophiles	7.54 —
Formes de transition	1.60 —
	100.00 0/0

SOUMBOU. — Cas clinique.

Polynucléaires	30.33 0/0
Lymphocytes	55.24 —
Grands mononucléaires	6.49 —
Éosinophiles	7.50 —
Formes de transition	0.36 —
	100.00 0/0

NOMBO. — Cas clinique.

Polynucléaires	33.24 0/0
Lymphocytes	54.73 —
Grands mononucléaires	3.58 —
Éosinophiles	7.67 —
Formes de transition	1.01 —
	100.00 0/0

Il y a donc lymphocytose, cela est indiscutable, mais ce qui est moins certain c'est la signification exacte que l'on doit lui attribuer. Faut-il, comme cela est probable, la faire dépendre uniquement de la présence des Trypanosomes dans l'organisme, ou bien les filaires que l'on trouve presque toujours en même temps qu'eux dans le sang des malades doivent-elle être aussi incriminées dans une certaine mesure? Nous ne saurions encore nous prononcer à ce sujet d'une façon précise. Cela est regrettable, car s'il était nettement démontré que cette lymphocytose est bien due à l'action nocive du Trypanosome et rien qu'à cette action, nous posséderions là un excellent moyen complémentaire de diagnostic.

VI

ÉLÉMENTS FIGURÉS DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN.

Nous ne nous étendrons pas sur la nature des éléments figurés que l'on est à même de rencontrer dans le liquide céphalo-rachidien des trypanosomiasiques, nos études à ce sujet n'étant pas encore assez approfondies. Nous dirons seulement que la mononucléose est constante : c'est une règle à laquelle nous n'avons jamais constaté d'exception.

En principe, il y a progression constante du nombre des éléments figurés dans le liquide céphalo-rachidien, du commencement à la fin de la maladie, et, en général, à la toute dernière période de l'affection, le liquide céphalo-rachidien, de limpide qu'il était au début, devient quelque peu opalescent, voire même légèrement louche. Cependant bien des fois il en est tout autrement et, chez un grand nombre de malades très avancés, le liquide céphalo-rachidien reste limpide comme de l'eau de roche et ne contient que très peu d'éléments figurés.

Ex.: N' Goma 2. — Période ultime de la maladie. — Ponction lombaire le 29 novembre 1906, veille de sa mort. Liquide céphalo-rachidien très clair; après centrifugation, pour ainsi dire pas d'éléments figurés.

Nous remarquerons enfin qu'il n'y a, en général, aucun parallélisme entra le nombre des Trypanosomes, et celui des leucocytes dans le liquide céphalo-rachidien. On peut aussi bien observer des liquides louches ne laissant voir que de rares parasites dans le sédiment obtenu par centrifugation, que des liquides limpides contenant de nombreux Trypanosomes.

Nous avons cherché également à déceler l'albumine dans le liquide céphalo-rachidien, sa présence est constatée d'une manière très irrégulière.

VII

AUTO-AGGLUTINATION DES HÉMATIES.

Dès novembre 1904, Christy signalait, chez les individus atteints de la maladie du sommeil, une propriété très curieuse des hématies examinées à l'état frais : celle de s'agglutiner.

Tous nos malades ont présenté ce phénomène. On sait en

quoi il consiste : Une goutte de sang, prélevée aseptiquement, est placée entre lame et lamelle rigoureusement propres, montre au bout de quelques minutes, à l'examen microscopique, des figures réticulaires où les globules sanguins sont empilés en petites colonnes comme des piles de monnaie qui se réunissent plus ou moins les unes aux autres. Tel est l'aspect du sang d'une personne en bon état de santé. Chez les malades trypanosomés, au contraire, les globules rouges se réunissent en amas, en paquets, formant de véritables îlots au milieu du plasma. Les piles de monnaie ne se voient pas. Il est naturellement nécessaire, pour observer ce phénomène, de ne prélever qu'une légère goutte de sang. Si on écrase une trop grande quantité de globules entre lame et lamelle, ceux-ci sont accolés forcément les uns aux autres, formant une couche épaisse et uniforme qu'il est naturellement tout à fait inutile d'examiner.

(Mission d'Études de la maladie du sommeil.)

LE BACILLE DE BANG ET SA BIOLOGIE

PAR LE PROFESSEUR Dr JULES NOWAK

Directeur de l'Institut vétérinaire et bactériologique de l'Université de Cracovie.

Bang a découvert en 1897 l'agent spécifique de l'avortement épizootique des vaches, déjà recherché sans résultat par Nocard. Il a réussi à isoler de l'exsudat de la surface interne de l'utérus, des membranes fœtales, du sang et des viscères des veaux avortés, un bacille qui présente beaucoup d'intérêt à cause de ses propriétés biologiques remarquables.

La culture de ce bacille a été obtenue par Bang dans la gélose droite additionnée de gélatine et de sérum sanguin. Il ensemence, dans le milieu nutritif ainsi préparé et liquéfié, la substance contenant son bacille, puis il la conserve à l'étuve à la température de 37° C. Au bout de quelques jours apparaissent de petites colonies dans une partie bien déterminée du tube. La partie supérieure de la gélose, jusqu'à 15 millimètres à peu près de sa surface, reste stérile. Plus bas, on voit une couche de gélose de quelques millimètres de hauteur, dans laquelle les microbes pullulent en abondance. Le reste de la gélose ne fournit aucune culture.

Bang et son collaborateur Stribold en ont conclu que le bacille ne se développe qu'en présence d'une quantité d'oxygène déterminée.

La partie supérieure de la gélose droite ensemencée avec le bacille de Bang reste stérile parce qu'elle renferme trop d'oxygène absorbé de l'air ambiant. La partie la plus inférieure est aussi stérile, mais parce qu'elle en contient trop peu pour que le bacille puisse s'y développer. Seule, une petite couche médiane du milieu nutritif placée entre ces deux parties, possède la quantité d'oxygène exigée par les microbes, et là ils pullulent et donnent des colonies. Aussi, le bacille ne se développe ni sur la surface de la gélose inclinée, ni sur les plaques de gélose.

Cette exigence du microbe vis-à-vis de l'oxygène, assez surprenante, n'est cependant pas sans exemple dans la biologie

des bactéries. Nous savons, en effet, depuis les travaux de Righi, Grixoni, Chudiakow, Beijerink, etc., que les microbes dits anaérobies sont, à vrai dire, les bactéries qui exigent pour leur développement de l'oxygène sous très petite pression. Quoiqu'il soit possible d'obtenir leur culture à l'abri d'oxygène, ils pullulent cependant plus abondamment dans une atmosphère qui contient une très petite quantité de ce gaz, comme cela a été démontré par Beijerink.

Le bacille de Bang se range alors à côté de ceux-ci et représente un terme intermédiaire entre les bactéries dites anaérobies et les bactéries aérobies.

Bang et Stribold ont constaté que le développement des colonies du bacille de l'avortement épizootique a lieu dans une atmosphère d'oxygène qui en contient moins que 100 0/00.

Ainsi la partie supérieure de la gélose droite ensemencée avec le bacille de Bang et conservée à l'air reste stérile, mais elle se remplit des nombreuses colonies lorsqu'on la place dans l'atmosphère d'oxygène renfermant 10 0/0 de ce gaz.

Dans ce dernier cas, le milieu nutritif au-dessous de cette partie ne montrait que peu de colonies très petites ; plus bas se trouvait une couche de gélose occupée par un grand nombre de colonies. Ainsi la gélose droite conservée dans l'atmosphère d'oxygène renfermait deux zones dans lesquelles le bacille se développait abondamment : l'une sur la surface même du milieu nutritif et dans sa partie supérieure imprégnée d'oxygène et l'autre dans la profondeur où la proportion d'oxygène contenue y était plus petite que dans l'air.

Dans ses recherches, Bang se servait de la méthode de culture décrite plus haut ; cette méthode permettait non seulement d'obtenir la culture de son bacille, mais aussi de vérifier l'identité de celui-ci, parce que nous ne connaissons jusqu'à présent aucun microbe qui ait des propriétés biologiques semblables.

La méthode de Bang n'est pas difficile à appliquer et donne de bons résultats dans tous les cas où le bacille se trouve en culture pure, ou en présence de très peu d'autres microbes cultivables. Si dans le milieu examiné il y a, à côté du bacille de Bang, encore d'autres germes, la méthode est difficile à appliquer et ne donne que des résultats peu satisfaisants. Les

microbes banaux pullulent et se multiplient ordinairement plus vite que le bacille spécifique, dont ils empêchent ou masquent le développement.

L'avortement épizootique est une maladie d'une très grande importance pour l'agriculture. Elle est répandue sur toute la terre, et présente un grand danger pour l'élevage du bétail. Une fois enracinée dans une étable, disent Nocard et Leclainche, elle fait échouer presque totalement l'élevage de nouvaux-nés et cause des pertes considérables. Pour combattre avec succès la maladie et empêcher sa propagation, il est très important de reconnaître le plus tôt possible la vraie cause de l'avortement. Or, la découverte de Bang nous, donne la possibilité de diagnostiquer l'avortement épizootique par la culture de l'agent spécifique de la maladie, avec une certitude absolue et dès le début, ce qui présente un très grand avantage dans la lutte contre cette épizootie redoutable. Dans beaucoup de cas, surtout quand les avortons sont encore peu développés et arrivent au laboratoire à l'état frais, on trouve souvent, dans le sang et dans le contenu intestinal, le bacille de Bang en culture pure. Chez les veaux plus avancés dans leur développement, on rencontre, à côté du même bacille, des microbes banaux. Mais chez les avortons de quelques mois, outre le bacille spécifique, il existe aussi une grande quantité d'autres bactéries, surtout si l'avorton arrive au laboratoire à l'état de putréfaction.

Il en est de même des membranes fœtales ou du liquide vaginal de vaches ayant avorté.

Le procédé indiqué par Bang ne permet pas d'isoler facilement le microbe de l'avortement épizootique lorsqu'on ne dispose que d'un matériel impur. En effet, pour y arriver il faut ensemencer à la surface de gélose inclinée contenue en tubes. ou de gélose coulée en boîtes de Petri, afin d'obtenir des colonies séparées. Il faut, de plus, maintenir tubes et boîtes à la température de l'étuve, dans une atmosphère où l'oxygène se trouve en proportion convenable.

Pour y parvenir, Preisz sème sur gélose inclinée, puis enlève une partie de l'oxygène en obstruant les tubes avec un tampon de coton imprégné de pyrogallate de potasse, et en complétant la fermeture avec de la cire à cacheter. Ce procédé ne peut

servir pour les ensemencements en boîte de Petri, et même avec les tubes l'absorption est souvent ou trop forte ou trop faible, de sorte que la réussite n'est pas certaine.

J'ai cherché une méthode plus sûre et d'un emploi plus facile. Le bacille de Bang pousse dans une atmosphère un peu moins riche en oxygène que l'air ordinaire ; j'ai donc songé à absorber, dans une enceinte limitée, une partie de l'oxygène, au moyen d'un microbe aérobie tel que le *bacillus subtilis*, déjà employé pour priver d'oxygène les milieux de culture du bacille tétanique. Des tubes de gélose inclinée sont ensemencés, les uns avec du *B. subtilis*, les autres avec les produits dans lesquels on recherche le bacille de Bang; tous sont placés dans un cristallisoir, puis recouverts par une cloche en verre. De la paraffine fondue est versée dans le cristallisoir pour compléter la fermeture.

L'ensemble est mis à l'étuve, dès que le *B. subtilis* a absorbé assez d'oxygène, le bacille de Bang commence à croître.

La diminution de l'oxygène sous la cloche dépend de la capacité de celle-ci et du nombre de tubes de culture de *subtilis* qu'elle contient. Si ceux-ci sont trop abondants, tout l'oxygène disparaît rapidement et l'on réalise des conditions d'anaérobiose stricte qui s'opposent au développement du bacille de Bang. Des essais multiples m'ont fait voir qu'après 72 heures à l'étuve, le bacille poussait mal sous des cloches de 1,200 c.c. renfermant l'une 3 tubes, l'autre 9 tubes de culture de *B. subtilis*. Dans la première, il restait trop d'oxygène, dans la seconde il n'y en avait pas assez. Au contraire, dans une troisième cloche, semblable, mais avec 5 tubes de *B. subtilis*, la culture du bacille de Bang était tout à fait satisfaisante. Dans ces conditions, une surface de culture de *subtilis* de 16 centimètres carrés correspondait à 240 c. c. d'air environ. Divers échantillons de *subtilis* m'ont donné les mêmes résultats. Le même dispositif peut servir à l'isolement du bacille épizootique sur gélose en boîte de Petri, il suffit d'observer ce rapport de 16 centimètres carrés de culture de *subtilis* pour 240 c. c. d'air. Cette règle empirique m'a toujours donné de bons résultats, et comme depuis quelques années, l'avortement n'est pas rare en Galicie, j'ai eu l'occasion d'appliquer cette méthode de culture dans nombre de cas, j'en citerai quelques-uns.

N° III. Deux tubes de gélose inclinée additionnée de sérum et deux tubes de la même gélose sans sérum, sont ensemencés avec du B. de Bang pur, puis introduits sous cloche avec des cultures de *B. subtilis*, comme il a été dit plus haut ; après 4 jours de séjour à l'étuve, apparaissent de délicates colonies spécifiques. Ces colonies reportées sur gélose inclinée à l'air ne se développent pas.

Lorsqu'il s'agit d'isoler le bacille spécifique de produits pathologiques (exsudat utérin, membranes fœtales, organes d'un avorton), on ensemence, en surface, sur gélose sérum soit en tubes, soit en boîtes de Petri. Ces ensemencements sont mis pendant 24 heures à l'étuve où les colonies banales se développent; s'ils ont été bien faits, il y a toujours des parties sur lesquelles aucun organisme n'a poussé. C'est justement sur ces points que l'on voit naître les colonies typiques du bacille de Bang, lorsqu'on place les tubes et les boîtes sous cloche, en présence de *B. subtilis*. Il ne reste plus qu'à repiquer les colonies pour obtenir le bacille spécifique à l'état de pureté. Parfois, plusieurs repiquages successifs sont nécessaires pour une purification complète.

Voici quelques exemples de cette façon de procéder :

N° VI. — Le sang du cœur et le contenu des intestins d'un avorton sont ensemencés sur plusieurs tubes de gélose inclinée, ceux-ci sont mis à l'étuve ; après 24 heures la surface nutritive est recouverte d'une quantité de colonies épaisses de bactéries banales, sauf en quelques parties où rien ne s'est développé. Ces points sont repérés par une marque sur le verre. Ces tubes introduits sous cloche avec du *B. subtilis* montrent, après trois jours, dans les parties jusqu'alors sans développement, des colonies nombreuses, petites et délicates, transparentes, peu proéminentes et à reflet verdâtre. Des préparations montrent qu'elles sont formées d'un bacille morphologiquement semblable à celui de Bang. Ensemencées sur gélose inclinée, elles ne donnent à l'air libre aucun développement, elles croissent dès qu'on les met sous cloche avec du *B. subtilis*. Repiquées en gélose-sérum droite, elles ne poussent pas à la surface. Mais à 1 centimètre au-dessous apparaissent de nombreuses colonies dans la zone où croît d'ordinaire le bacille de Bang.

N° VII. — Le sang du cœur d'un avorton, ensemencé en sérum-gélose droite par piqûre, donne, à quelque distance de la surface, une culture pure du bacille de Bang. Le même sang sur gélose inclinée, placée sous cloche avec *subtilis*, fournit également des colonies pures du bacille spécifique.

Le contenu intestinal du même avorton ne cultive ni en sérum-gélose droite, ni en sérum-gélose inclinée ; sous cloche avec *subtilis* il ne paraît pas contenir de bacille de Bang, non plus que d'autres bactéries. Cependant

avec le même contenu, des boîtes de Pétri sont ensemencées et mises à l'étuve : les unes gardées à l'air libre restent stériles, les autres sont placées sous cloche avec *subtilis*. Le troisième jour, quelques colonies sont développées sur une des boîtes, elles ont les caractères de celles du bacille de Bang. Reportées en gélose droite, elles poussent au-dessous de la surface comme celles du bacille typique.

N° X. — Le sang du cœur et le contenu intestinal d'un avorton sont ensemencés sur des tubes de gélose inclinée et sur gélose en boîte de Pétri. A l'étuve, à l'air libre, il ne se développe aucune bactérie; alors tubes et boîtes sont introduits sous cloche avec *subtilis*. Après trois jours il naît un grand nombre de colonies du bacille de Bang dans les tubes et le long des stries tracées à la surface de la gélose des boîtes. Ces colonies sont délicates, assez grandes, visibles à l'œil nu, un peu proéminentes, à reflet verdâtre. Dans les boîtes où la gélose a été coulée après avoir été ensemencée à l'état liquide, les colonies superficielles sont peu abondantes, mais il en existe beaucoup à l'intérieur du milieu, sans aspect caractéristique.

Sur quatre tubes contenant le même milieu et ensemencés de même, puis bouchés avec un tampon imbibé de pyrogallate et enfin cachetés à la cire suivant la technique de Preisz, un seul a donné, après quelques jours, un petit nombre de colonies typiques.

N° XI. — Le sang et le contenu intestinal d'un avorton de 5 à 6 mois sont ensemencés sur gélose inclinée en tubes et en boîtes de Pétri. Au bout de 24 heures de séjour à l'étuve, la surface du milieu est couverte d'une couche épaisse d'un microbe banal; sur quelques boîtes il y a des espaces non envahis. Celles-ci sont mises sous cloche avec des cultures de *subtilis*; trois jours après, sur les points restés libres, quelques rares colonies de microbes de Bang, dont l'identité est vérifiée au microscope et par les caractères de cultures.

N° XII. — Le sang et le contenu intestinal d'un avorton sont examinés en même temps que le liquide vaginal de la vache avortée, sur des tubes de gélose inclinée en tubes et dans des boîtes de Pétri. Après 48 heures de séjour à l'étuve, à l'air libre, on constate que les ensemencements du sang du cœur sont stériles, que les tubes et les boîtes du contenu intestinal contiennent des bactéries banales, que la surface des tubes et des boîtes du liquide vaginal est envahie par une couche épaisse uniforme de bactéries banales. Cependant, sur quelques boîtes il y a des espaces libres. Le tout est mis à l'étuve à 37°, avec des cultures de *subtilis*, sous cloche lutée à la paraffine. Au bout de deux jours, la gélose ensemencée avec le sang est encore stérile; sur les tubes et les boîtes du contenu intestinal il s'est développé des colonies du bacille de Bang. Pour ce qui est des tubes et des boîtes du liquide vaginal, malgré leur envahissement par les bactéries banales, on voit, dans les espaces libres signalés plus haut sur les boîtes, des colonies caractéristiques qui, reportées sur gélose inclinée, ne poussent pas à l'air libre, mais donnent un développement quand les tubes sont placés sous cloche avec *subtilis*.

Ces exemples, que je pourrais multiplier, prouvent que le

procédé au *B. subtilis* suffit, dans les conditions de la pratique, pour porter un diagnostic en isolant le microbe spécifique. Je n'ai pas déterminé la pression d'oxygène la plus favorable à la culture, mais j'ai observé que si, dans des cultures successives sous cloche, on diminue graduellement la surface ensemencée en *subtilis*, le microbe de Bang s'accoutume à des quantités d'oxygène de plus en plus fortes, jusqu'à vivre à l'air, bien que pauvrement.

* * *

Dans son premier mémoire sur l'avortement épizootique, Bang dit que son bacille ne se développe pas lorsque l'oxygène a été enlevé par le pyrogallate de potasse. On sait d'autre part que Preisz a proposé de faire la culture dans des tubes fermés par un tampon imprégné d'une solution de pyrogallate et obturés avec de la cire à cacheter.

J'ai déjà fait observer qu'il était difficile de régler ainsi l'absorption de l'oxygène et que par cette méthode on n'obtient pas toujours une culture. Les expériences suivantes m'ont confirmé dans cette opinion.

a) Quelques tubes de sérum-gélose inclinée et droite, ensemencé avec le microbe de Bang sont obturés avec des tampons de coton imprégnés de pyrogallate de potasse et cachetés à la cire. Placés pendant quelques jours à l'étuve à 37°, ils ne donnent pas de culture, mais mis ensuite sous cloche avec *B. subtilis*, ils fournissent des colonies typiques ;

b) Des bacilles de l'avortement épizootique, isolés de huit cas différents, sont ensemencés dans gélose droite, dans 8 tubes fermés par des tampons imbibés de pyrogallate de potasse puis cachetés. Trois tubes montrent des cultures, cinq restent stériles. Ces 5 tubes cultivent lorsqu'on les place sous cloche avec du *subtilis* ;

c) On ensemence de la gélose en boîte de Pétri avec du bacille de Bang ces boîtes mises sous une cloche en même temps qu'une solution de pyrogallate de potasse ne donnent pas de culture à l'étuve à 37°. Alors on les porte sous cloche avec *subtilis* et après quelques jours les colonies caractéristiques apparaissent.

* * *

Culture du bacille de Bang dans une atmosphère d'oxygène. — De tout ce qui précède, il résulte que le bacille de Bang exige pour se développer une pression d'oxygène ni trop forte ni trop faible. Cependant, j'ai réussi une culture dans l'oxygène ; sur

6 tubes de gélose inclinée ensemencée et conservée à l'étuve dans une atmosphère d'oxygène, deux ont fourni des colonies, les autres sont restés stériles. Ceux-ci portés sous cloche avec *subtilis* ont donné des cultures. Je suppose qu'un peu d'air restant a facilité le développement qui ne se fait pas dans l'oxygène pur.

Culture du bacille de Bang dans l'air comprimé. — L'expérience précédente m'a conduit à essayer la culture dans l'air sous pression. Des tubes ensemencés de gélose inclinée sont mis à l'étuve à 37°, les uns à l'air libre, d'autres dans un cylindre où l'air est comprimé à 2 atmosphères, d'autres dans un 3e cylindre à 5-6 atmosphères. Le 3e jour les tubes à l'air libre n'ont pas cultivé, ceux à 2 atmosphères présentent une culture visible mais très mince, ceux à 3 atmosphères sont très bien développés, ceux à 6 atmosphères n'ont pas poussé.

Les tubes à l'air libre et ceux à 6 atmosphères fournissent des cultures caractéristiques sous cloche avec *subtilis*.

Lorsque la pression de l'air est de 4 atmosphères on voit une trace de développement sur quelques tubes et rien sur les autres. La pression qui convient le mieux est donc celle de 3 atmosphères.

Ces expériences paraissent en contradiction avec les premières établissant que le bacille de Bang croît dans une atmosphère où la pression de l'oxygène est moindre que dans l'air ; il va de soi que nous avons soigneusement vérifié l'identité des cultures dans l'air comprimé à 3 atmosphères [1].

Morphologie du bacille de Bang. — Le bacille de Bang est une bactérie très petite, immobile, semblable au cocco-bacille du choléra des poules. Dans les produits pathologiques elle est souvent dans l'intérieur des leucocytes, et apparaît sous la forme de courts bâtonnets ovoïdes. Ce microbe se colore bien par les couleurs d'aniline, il se teint lentement et souvent plus fortement aux pôles. Ils ne se colore pas par la méthode de Gram et ne forme pas de spores.

Sur gélose-sérum et sur gélose ses colonies sont d'aspect différent, suivant qu'elles sont développées à la surface ou dans l'intérieur du milieu. Les colonies superficielles sont arrondies,

1. Preisz a cultivé le bacille de Bang dans l'acétylène, je n'ai pas vérifié cette expérience.

transparentes, semblables à des gouttes de rosée. Elles proéminent un peu au-dessus de la surface et présentent un léger reflet verdâtre. Les colonies profondes sont plus compactes, plus petites, de forme arrondie ou irrégulière, quelquefois avec un noyau plus dense entouré d'une zone périsphérique moins serrée. Dans la gélose droite les colonies profondes ont la même apparence que celles développées dans la masse de la gélose d'une boîte de Petri.

Comme tous les cocco-bacilles appartenant au groupe des Pasteurella, celui de Bang est polymorphe dans les cultures. Tantôt il a l'aspect d'un tout petit bâtonnet 2 à 3 fois plus long que large, aux extrémités arrondies ou même effilées. A côté de ces formes qui sont les plus fréquentes, il existe des individus très courts simulant des cocci groupés deux à deux. Dans les cultures en bouillon, beaucoup de bacilles prennent surtout la couleur aux extrémités ; dans ce milieu ils peuvent s'allonger et ressembler à de véritables bacilles. Les formes d'involution y sont fréquentes ; on y rencontre des bâtonnets allongés renflés à une extrémité et émettant parfois des petites ramifications. Ces formes d'involutions ne s'observent guère sur gélose.

Le bacille de Bang se conserve longtemps à l'état vivant dans les cultures ; j'ai pu rajeunir des cultures sur gélose inclinée âgée de quelques mois. En gélose droite le microbe était encore vivant au bout de deux années, on peut donc admettre que dans la nature il peut vivre longtemps en conservant son aptitude à pulluler si une occasion favorable se présente. Cette particularité a son importance pour l'étiologie de l'avortement épizootique et l'explication de la permanence et des retours d'épidémies dans certaines étables.

Preisz a rapproché, au point de vue de la forme, le bacille de Bang de celui de la diphtérie, parce qu'il donne des formes d'involution rappelant celles de ce dernier; il le range donc dans le groupe des corynebactéries. Ce rapprochement me semble forcé, car le bacille de Bang est un vrai cocco-bacille ne se colorant pas par le procédé de Gram.

Culture du bacille de Bang sur les divers milieux. — Le bacille de Bang croît sur presque tous les milieux nutritifs, dans les conditions d'aération que nous avons dites, la température optima pour sa croissance est de 37°.

Cultures sur gélose. — L'ensemencement peut être fait en surface sur gélose inclinée en tubes, ou sur gélose coulée en boîte de Petri; en profondeur, dans gélose droite par piqûre et aussi en répartissant la semence dans le milieu liquéfié à température convenable, puis solidifié.

L'addition du sérum à la gélose n'est pas indispensable ; le bacille pousse dans la gélose ordinaire, quand l'ensemencement est pratiqué en surface. Dans le cas de culture en profondeur l'addition de sérum favorise la croissance.

Sur les tubes de gélose ordinaire inclinée, ensemencée en stries, le bacille de Bang se développe, dans une atmosphère appropriée, à l'étuve à 37°, dès le 3e jour. Lorsque les colonies sont suffisamment séparées les unes des autres, elles se montrent comme des taches transparentes, simulant une goutte de rosée à reflet verdâtre ; elles continuent à grandir, si les tubes sont maintenus à la température de la chambre.

Dans les tubes de gélose droite ensemencés par piqûre, le développement commence le 4e jour à 10 millimètres au-dessous de la surface, sous forme d'une traînée. Il est surtout abondant dans la zone située à 2 centimètres, en ce point il se produit des ramifications latérales. Au-dessous, les colonies s'espacent pour s'arrêter vers le milieu de la colonne de gélose, quelquefois elles atteignent le fond.

Bang a fort bien décrit la culture en gélose-sérum ensemencée à l'état liquide, puis solidifiée en position verticale. Les colonies sont visibles à partir du 3e jour, si on s'est servi de produits venant d'animaux malades et déjà après 24 heures, si la semence provient d'une culture en bouillon. Cette culture caractéristique débute à 1 centimètre environ de la surface, et comprend une zone de 2 centimètres, sans descendre dans la profondeur. Retirées de l'étuve les cultures continuent à croître lentement; quand les colonies sont distantes les unes des autres, leur dimension atteint jusqu'à 1 millimètre, après un temps assez long.

Dans la gélose sans sérum, le développement ne se produit pas toujours; plusieurs fois les ensemencements faits directement avec des produits pathologiques, ou même des cultures, sont restés stériles; d'autresfois la culture s'est mise en train avec un grand retard, alors qu'elle était régulière en gélose-sérum.

En gélose pure la zone de culture est située à une profondeur plus grande qu'en gélose-sérum.

Quand on cultive le bacille de l'avortement épizootique sur gélose inclinée, l'addition du sérum n'a aucune influence sur le développement. Il en est de même de l'addition de la gélatine à la gélose.

Si sur gélose droite on fait pousser du *Bacillus subtilis*, le microbe de Bang croît immédiatement au-dessous.

Culture en gélose sucrée. — Preisz considère la gélose sucrée comme le milieu de choix pour la culture du bacille de l'avortement épizootique, il le préfère même à la gélose-sérum conseillée par Bang. Mes expériences ne confirment pas cette opinion, je n'ai pas trouvé la gélose sucrée supérieure à la gélose simple : elle m'a donné, comme cette dernière, des croissances tardives quand elles ont eu lieu. Ainsi les bacilles des cas III, IV, V, VI, VIII, ensemencés sur gélose droite, avec 0,5 0/0 de glucose ne se sont développés qu'après 10 jours d'étuve à 37°. La zone des colonies était située à 15 millimètres de la surface et présentait une faible épaisseur. Même après 1 mois, les colonies n'avaient pas augmenté. Toutes les races de bacilles de Bang que j'ai eues à ma disposition se sont comportées, dans la gélose renfermant du glucose en diverses proportions, comme dans la gélose ordinaire, il y a toujours des ensemencements stériles. Les bacilles des cas III, IV, V, et X semés en même temps en gélose sucrée à 2 0/0 et dans la même gélose additionnée de sérum ont poussé régulièrement dans cette dernière et ne se sont pas développés dans le milieu glucosé.

Des résultats semblables ont été obtenus avec la gélose ordinaire contenant soit 2 0/0 de saccharose, soit la même quantité de maltose, de lévulose, de mannite ou de dextrine.

De 7 échantillons différents de bacille de Bang ensemencés en gélose droite additionnée d'un corps réducteur, formiate de soude à 0,5 0/0, 4 ont poussé au bout de 10 jours, 3 sont restés stériles.

Culture en gélatine. — Le bacille de l'avortement épizootique croît dans la gélatine à la température de la chambre, mais beaucoup plus lentement que dans la gélose à 37°. Après 4 à 6 semaines, les colonies apparaissent d'abord à quelques millimètres au-dessous de la surface, puis plus profondément, sans

doute au fur et à mesure que l'air pénètre dans le milieu. Entre les deux groupes de colonies serrées en une mince couche, la gélatine contient quelques colonies séparées, qui se propagent aussi quelquefois dans les parties inférieures du tube. Il n'y a pas de différence entre la gélatine sucrée et la gélatine ordinaire. Dans la gélatine-sérum la culture est un peu plus précoce.

Culture en bouillon. — Le bacille de Bang se développe dans le bouillon alcalin ordinaire, à l'étuve à 37°, soit à l'air libre, soit sous cloche avec un *B. Subtilis.* Tantôt la culture se fait dans toute l'épaisseur du liquide, tantôt elle se produit d'abord à quelques millimètres de la surface, le reste du milieu restant clair. Si on agite le tube, la croissance continue dans toute la masse, et bientôt des flocons se déposent sur le fond du vase. En bouillon-sérum le développement n'est pas plus abondant.

Culture dans le lait. — Dans des tubes de lait à l'air libre et dans les tubes mis sous cloche avec *B. Subtilis* le bacille de l'avortement pousse également bien, sans amener de coagulation, contrairement à ce qui a été dit par Preisz. Chaque fois que la caséine a été coagulée, il y avait une autre bactérie associée au bacille de Bang, notamment un Streptocoque.

Culture sur pomme de terre. — Elle est nulle ou très pauvre.

Production d'acide dans les cultures. — Le bouillon alcalin, ordinaire ou additionné de sucre, dans lequel croît le bacille de Bang, donne, au bout de quelques jours, une réaction amphotè re quelquefois légèrement acide au papier de tournesol.

Dans le petit lait de Petruschki le bacille de l'avortement produit une petite quantité d'acide, tantôt nettement perceptible, tantôt suffisante à peine pour neutraliser l'alcalinité et donner la réaction amphotère. D'ailleurs, ce milieu convient mal au bacille qui n'y pousse pas toujours. Les races IV, III et VIII en culture sous cloche avec *subtilis*, ont rougi le petit lait de Petruschki après 8 jours, d'autres bacilles isolés d'un avorton et du liquide vaginal d'une vache ne changèrent pas la couleur du milieu.

Production de gaz. — Ni en bouillon contenant 0 gr, 5 0/0 de glucose et placé dans des tubes à fermentation, ni en gélose additionnée de glucose, de saccharose, de maltose, de lévulose, de mannite ou de dextrine, je n'ai noté de dégagement de gaz.

Propriétés réductrices. — Tous les bacilles de Bang que j'ai pu me procurer décolorent la gélose-sérum teintée par le tournesol, excepté à la surface qui reste bleue. Le même milieu additionné de sulfate d'indigo est complètement décoloré. Une seule fois un tube préparé avec du rouge neutre, s'est incomplètement décoloré dans sa partie inférieure.

***

Expériences sur les animaux. — En injectant des cultures pures de son bacille, soit dans les veines, soit dans le vagin et l'utérus des vaches pleines, Bang a déterminé l'avortement.

Preisz a introduit des cultures dans le vagin de vaches pleines, sans résultat; il en a été de même avec des cobayes femelles et des lapines.

N'ayant pas de vache à ma disposition, j'ai essayé de provoquer l'avortement sur des femelles de petits animaux. Voici les expériences que j'ai faites :

N° 1. Une cobaye pleine a ingéré deux fois des cultures en bouillon de bacille de Bang; elle a mis bas à terme des petits vivants.

N° 2. Une cobaye pleine reçoit sous la peau 0 c. c. 5 d'une culture en bouillon; 6 jours après elle expulse 2 fœtus morts et périt elle-même au bout de 18 jours.

N° 3. A une femelle pleine de cobaye, on injecte, sous la peau, 1 c. c. de culture en bouillon, âgée de 8 jours; elle expulse 13 jours après l'inoculation des fœtus morts qu'elle mange aussitôt.

N° 4. Quatre cobayes pleines sont inoculées dans le tissu sous-cutané, chacune avec 0 c. c. 5 d'une culture en bouillon et 2 autres reçoivent la même dose dans la cavité péritonéale. Dans les 10 jours suivants, les 4 femelles injectées sous la peau et une de celles inoculées dans le péritoine font leurs petits bien portants et à terme. La deuxième femelle inoculée dans l'abdomen expulse, 9 jours après, 2 fœtus morts peu développés.

N° 5. — On dilue dans 10 c. c. de solution physiologique, une anse de platine d'une culture jeune, sur gélose, de bacille de Bang, quatre cobayes pleines reçoivent sous la peau, chacune 0 c. c. 5 de l'émulsion. Le troisième jour suivant, une de ces femelles expulse deux fœtus morts, le 4e jour, une autre se débarrasse de 3 fœtus vivants, venus avant terme et qui meurent presqu'aussitôt. Une 3e avorte, 7 jours après l'inoculation, de 3 fœtus peu développés et morts! La 4e femelle met bas à terme, 12 jours après l'infection, 4 fœtus bien portants.

N° 6. — Dans 10 c. c. de solution physiologique de sel marin, on met en suspension une anse de platine de bacille de Bang cultivé sur gélose. Un demi-centimètre cube de l'émulsion est injecté dans la veine de l'oreille

d'une lapine pleine; le 4e jour elle expulse 4 petits dont un mort-né, les autres succombent quelques heures après la naissance

No 7. — Deux anses de platine chargées de bacilles de Bang poussé sur gélose sont émulsionnées dans 10 c. c. de solution physiologique. Une lapine pleine, de grande taille, reçoit 0 c. c. 1 dans une veine de l'oreille ; elle expulse 24 heures après 5 petits peu développés : 5 sont mort-nés, les trois autres succombent peu après leur naissance.

En même temps que la première, une seconde lapine pleine a reçu sous la peau 0 c. c. 3 de la même émulsion ; elle met bas, à terme, des petits bien portants.

De 2 souris blanches inoculées sous la peau avec 0 c. c. 1 de la même émulsion, l'une expulse, deux jours après, deux fœtus morts, l'autre met bas, à terme, des petits vivants.

L'émulsion qui a servi aux expériences précédentes est chauffée à 100 °. pendant dix minutes, et on en injecte 0 c. c. 5 dans la veine de l'oreille d'une lapine pleine et 0 c. c. 5 sous la peau d'nne seconde lapine. Toutes deux font, à terme, des petits bien portants.

No 8. — Une anse de platine, chargée de bacilles de Bang provenant d'une culture sur gélose, est agitée dans 10 c. c. d'eau salée physiologique. Un demi centimètre cube de l'émulsion est inoculé sous la peau d'une lapine pleine : 12 jours après, elle expulse 11 fœtus peu développés, les uns mort-nés, les autres expirent au bout de quelques instants.

No 9. — Une lapine pleine reçoit, sous la peau, 1 c. c. d'une émulsion préparée comme celle de l'exp. n° 8 : elle met bas 12 jours après quelques fœtus développés; la plupart sont mort-nés et les autres meurent bientôt.

No 10. — Une culture en bouillon, vieille de 7 jours, est filtrée sur bougie Chamberland. Le filtrat ensemencé ne donne pas de culture. 5 c. c. de ce filtrat sont injectés sous la peau d'une cobaye pleine; 9 jours après elle expulse deux fœtus morts.

No 11. — Le filtrat d'une culture de 8 jours est injecté, à la dose de 10 c. c. sous la peau d'une cobaye pleine. 21 jours après, elle met bas, à terme, 4 petits vivants.

Les expériences qui viennent d'être rapportées montrent que, chez les cobayes et les lapines pleines, l'introduction du bacille de Bang sous la peau, dans les veines et dans le péritoine peut déterminer l'avortement et la mort des fœtus. Les femelles infectées ne paraissent pas malades, une seule cobaye est morte, sept jours après l'avortement, d'une cause banale.

Je n'ai jamais pu provoquer l'avortement en introduisant le bacille de Bang dans le vagin, non plus qu'en le faisant ingérer.

Je regrette de n'avoir pas pu expérimenter sur de grands animaux et surtout sur des vaches. Malgré que les expériences

exécutées par Bang sur les vaches tendent à prouver que son bacille est bien celui qui cause l'avortement épizootique, il reste beaucoup à faire sur ce sujet, et tant que nous ne serons pas plus avancés, nous serons impuissants à prévenir cette maladie qui fait subir des pertes si lourdes à l'agriculture. Il est donc à souhaiter que l'on mette à la disposition des expérimentateurs des étables et des moyens pécuniaires suffisants pour mener à bien cette importante étude.

Bang a constaté que le bacille de l'avortement épizootique se trouve surtout dans l'exudat utérin et dans l'écoulement vaginal des vaches qui ont avorté. On le rencontre aussi dans les cadavres de fœtus expulsés, et il est presque toujours présent dans le contenu intestinal de ceux-ci et souvent aussi dans le sang, seul ou associé à des germes banaux. Il est donc possible de diagnostiquer la maladie en isolant le bacille spécifique soit du fœtus expulsé ou de ses enveloppes, soit de l'écoulement vaginal. La méthode que je propose permet d'obtenir des cultures, même de produits très souillés et infectés, avec les microbes banaux et de l'isoler avec la même facilité que les autres bactéries dont la culture réussit dans les conditions et sur les milieux ordinaires. C'est un fait important pour la pratique, car il facilite la lutte contre cette épizootie. Le diagnostic précoce de la maladie est indispensable si on veut avoir de bons résultats du procédé préconisé par Bang et consistant dans la désinfection des étables et des animaux exposés à la contamination. Il faut l'appliquer de bonne heure, après le premier cas. Dans tous les cas d'avortement on devra songer à cette épizootie redoutable et s'efforcer de poser tout de suite un diagnostic certain, qui peut seulement nous être donné par une recherche bactériologique.

BIBLIOGRAPHIE

NOCARD. — Recherches sur l'avortement épizootique des vaches. Rapport à M. le ministre de l'Agriculture. *Rec. de médec. vét.*, 1886.

BANG. — Die Aetiologie des seuchenhaften Verwerfen. *Ztschr. f. Tiermed.* N. F. d. Deutschen. *Ztschr f. Tiermed.* Bd 1, 1897.

BANG. — Weitere Untersuchungen über das Verwerfen. *Mannedsskrift for Dyslaeger*, 1900.

PREISZ. — « Der Bacillus des seuchenhaften Verwerfens ». *Centralbl. Bakt. f.* 1. Abt. Bd. 33, N° 3.

EXPLICATION DES PLANCHES

Pl. V. — Fig. 1. — Préparation microscopique d'une culture de bacille de Bang sur gélose inclinée, obtenue à l'aide du *bacillus subtilis*. gr. = 1,500 diamètres.

Fig. 2. — Photographie d'une culture en bouillon. gr. = 1,500.

Fig. 3. — Bacille de Bang dans une culture droite, sérum-gélose.

Fig. 4. — Zone de colonies de bacille de Bang en gélose droite, développées en couche mince.

Fig. 5. — Culture droite sur sérum-gélose; en profondeur, couche de colonies délimitée nettement du haut, les colonies deviennent plus petites et plus rares à mesure qu'elles s'enfoncent dans le milieu.

Fig. 6. — Pareille zone que ci-dessus, mais limitée nettement dans la partie inférieure.

Fig. 7. — Semblable zone sans limites rigoureuses à la partie supérieure et à la partie inférieure.

Pl. VI. — Fig. 8. — Plaque de sérum-gélose ensemencée par dilution avec le contenu intestinal d'un avorton. Faible grossissement.

Fig. 9. — Même préparation à un grossissement de 20 diam.

Fig. 10. — Une colonie superficielle de la même plaque, gr. = 35 D.

Fig. 11. — Une colonie superficielle de la même plaque, mais développée d'une colonie profonde qui forme son noyau. Gr. = 35 D.

Fig. 12. — Colonie de bacille de Bang, sur gélose en boîtes de Petri, cultivées en présence du *bacillus subtilis*. ensemencées avec du contenu intestinal, sur la surface et en stries. Faible grossissement.

Fig. 13. — Colonie de la même plaque au grosst de 30 D.

Fig. 14. — Colonies profondes en plaque sérum-gélose. Gr. = 50 D.

Pl. VII. — Fig. 15. — Préparation par décalque d'une colonie sur gélose en plaque, gr. = 1,500 diam.

Fig. 16. — Bacilles de Bang dans l'exsudat utérin. Gr. = 1,500 D.

Fig. 17. — Bacilles de Bang inclus dans les leucocytes d'exsudat utérin.

Fig. 18. — Gélose inclinée couverte par les colonies du bacille de Bang.

Fig. 18. — Culture droite en sérum-gélose. — Colonie de bacille de Bang.

Fig. 20. — Semblable colonie.

Les Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1907

Par J. VIALA

Préparateur au service antirabique

I

Pendant l'année 1907, 786 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur : 3 sont mortes de rage.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées.. 786
Morts.. 3
Mortalité 0/0.. 0,38

Le nombre des personnes traitées se rapproche de celui de l'année dernière (772).

Années.	Personnes traitées.	Morts.	Mortalité 0/0.
1886	2.671	25	0,94
1887	1.770	14	0,79
1888	1.622	9	0,55
1889	1.830	7	0,38
1890	1.540	5	0,32
1891	1.559	4	0,25
1892	1.790	4	0,22
1893	1.648	6	0,36
1894	1.387	7	0,50
1895	1.520	5	0,38
1896	1.308	4	0,30
1897	1.521	6	0,39
1898	1.465	3	0,20
1899	1.614	4	0,25
1900	1.420	4	0,28
1901	1.321	5	0,38
1902	1.005	2	0,18
1903	628	2	0,32
1904	755	3	0,39
1905	727	3	0,41
1906	772	1	0,13
1907	786	3	0,38

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1907.

1907	MORSURES à la tête.			MORSURES aux mains.			MORSURES aux membres.			TOTAUX		
	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.
Tableau A....	13	0	0	91	0	0	31	1	3,22	135	1	0,74
Tableau B....	40	1	2,5	241	0	0	103	0		384	1	0,26
Tableau C....	18	0		153	0	0	96	1	1,04	267	1	0,37
	71	1		485	0	0	230	2		78	3	0,38

III

Au point de vue de leur nationalité, les 786 personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

Belgique	1
Espagne	2
Hollande	16
Suisse	1
Autriche	1

Soit 21 étrangers et 765 Français.

VOICI LA RÉPARTITION PAR DÉPARTEMENT DES 765 FRANÇAIS.

Aisne	17	Manche	7
Aveyron	10	Mayenne	8
Calvados	12	Meurthe-et-Moselle	8
Cantal	32	Morbihan	35
Charente	4	Nièvre	4
Cher	7	Oise	9
Corrèze	19	Puy-de-Dôme	10
Côtes-du-Nord	36	Rhin (Haut-)	36
Côte-d'Or	8	Sarthe	7
Creuse	10	Seine	188
Eure	6	Seine-et-Marne	10
Finistère	40	Seine-et-Oise	39
Garonne (Haute-)	4	Sèvres (Deux-)	20
Ille-et-Vilaine	33	Somme	12
Indre	16	Var	3
Indre-et-Loire	9	Vendée	10
Loire-Inférieure	14	Vienne	16
Loiret	6	Vienne (Haute-)	2
Lot	32	Vosges	13
Maine-et-Loire	11	Yonne	2

IV

Personnes traitées mortes de la rage.

Darxe (Charles), 4 ans, chez ses parents, à Rodes (Pyrénées-Orientales).

Mordu le 11 juin aux lèvres, 3 morsures pénétrantes qui ont saigné, non cautérisées. Traité à l'Institut Pasteur, du 13 juin au 3 juillet : les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 24 juillet, il est mort le 26 juillet.

Darxe avait été mordu par un chien reconnu enragé du vivant de l'animal et à l'autopsie par M. Delhoste vétérinaire des Haras àPerpignan.

Weber (Paul), 6 ans, chez ses parents, à Crévic (Meurthe-et-Moselle).

Mordu le 7 août, au mollet gauche, nu six morsures profondes qui ont saigné, non cautérisées.

Traité du 9 au 28 août : les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 21 septembre, il est mort le 25 septembre.

Weber avait été mordu par un chien reconnu comme suspect de rage par M. Dieudonné, vétérinaire à Tinville. Les animaux inoculés le 8 août, avec le bulbe de l'animal, sont morts de la rage le 3 septembre.

Trois autres personnes mordues gravement par le même chien, et traitées à l'Institut Pasteur, sont actuellement en parfaite santé.

Beaulieu (Jean-Louis), 29 ans, boulanger, demeurant à Plouaer (Côtes-du-Nord.)

Mordu le 29 mai à l'avant-bras nu gauche, par un chien errant qui n'a pas été retrouvé. Les blessures, au nombre de quatre, avaient été lavées à l'eau phéniquée 30 minutes après.

Traité du 5 au 22 juin : les symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 2 septembre, il est mort le 4 septembre à l'hôpital Pasteur. Les animaux inoculés par trépanation, avec son bulbe, ont été pris de rage les 22 et 29 septembre.

Personne non traitée, morte de la rage.

Le Braz (Louis), 58 ans, demeurant à Bonnalec (Finistère).

Mordu le 14 novembre, à la main gauche, face dorsale, trois morsures non cautérisées.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 17 janvier. Les animaux inoculés avec son bulbe sont morts de la rage le 25 février 1907.

Le Braz avait été mordu par un chien errant qui n'a pas été retrouvé.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE JUILLET 1908. No 7

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RAPPORT DE LA MISSION D'ÉTUDE
DE LA
Maladie du sommeil et des trypanosomiases animales
SUR LA PETITE CÔTE ET DANS LA RÉGION DES NIAYES AU SÉNÉGAL

PAR MM. A. THIROUX, R. WURTZ ET L. TEPPAZ

A la fin de l'année 1907, le Dr Ninaud, médecin de la municipalité de Rufisque, chargé de l'assistance médicale indigène, signalait, dans toute la région du Diander, jusqu'à la Tamna, de nombreux cas de maladie du sommeil.

Un certain nombre de villages avaient été décimés, ou avaient été forcés de se déplacer, d'autres avaient complètement disparu.

Chez deux malades envoyés à Saint-Louis par le Dr Ninaud, provenant de la région incriminée, on put isoler *Trypanosoma gambiense*, agent pathogène de la trypanosomiase humaine.

M. le Gouverneur du Sénégal, afin d'être éclairé complètement sur la situation, envoya alors une mission chargée de déterminer les limites de la zone contaminée et d'étudier en même temps les trypanosomiases animales dans la même région, où les moutons et les bœufs zébus ne vivent pas. Après entente avec le Dr Ninaud, qui signala les endroits les plus contaminés, l'itinéraire fut établi dans le Diander, mais afin de se documenter plus complètement, la mission résolut de commencer par visiter au sud la Petite-Côte, patrie classique de la maladie du sommeil, dont les postes de Joal et Portudal passaient, il y a 30 ans, pour être des foyers très dangereux. D'autre part, il était indispensable de s'assurer qu'au Nord la maladie ne remontait

pas au-dessus de la Tamna, en dehors de la zone d'action du Dr Ninaud, et il fut décidé que toute la région dite des Niayes située entre Rufisque et Saint-Louis serait visitée.

Les Niayes sont constituées par des bas-fonds marécageux, boisés, recouverts principalement de palmiers à huile (*Elaïs guineense*). Ces bas-fonds sont situés entre des dunes de sable; le sol en est formé d'humus ; on y rencontre quelquefois des fonds argileux.

Dans un rapport précédent (1906) sur les trypanosomiases animales observées sur la Petite-Côte, aux environs de Nianing, nous avions déjà insisté sur ce point que dans certains endroits des Niayes on retrouvait des tsétsé (*Glossina palpalis*) à Sangaleam et que la région méritait d'être visitée soigneusement. D'autre part, les rapports médicaux faits jusqu'alors nous assuraient qu'il n'y avait rien de suspect. L'assistance médicale indigène n'existait pas et les malades se cachaient. Depuis, ils sont devenus plus confiants et se rendent plus volontiers à la visite du médecin qui peut ainsi se rendre mieux compte de l'état sanitaire du pays.

La mission partie de Joal est remontée jusqu'à Saint-Louis en visitant les localités portées sur les cartes ci-après. Les résultats de ses recherches sont les suivants.

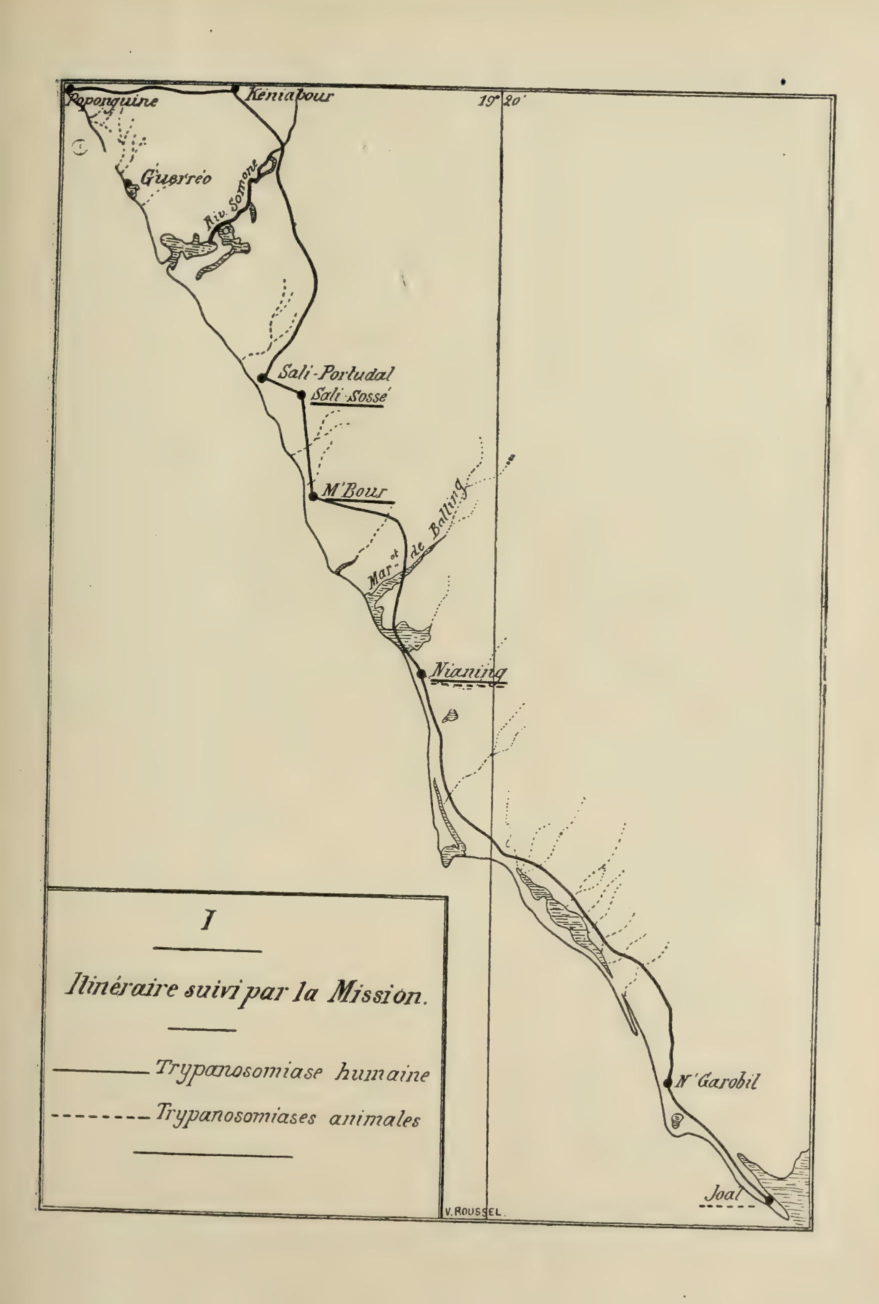
I

TRYPANOSOMIASE HUMAINE OU MALADIE DU SOMMEIL

Joal. Village de 900 habitants, ancien poste militaire, abandonné en 1888, servant de villégiature à Rufisque et à Gorée. Sa splendeur est tombée en même temps que celle de Gorée; on y retrouve encore de jolies maisons de campagne.

Le village est bâti sur une presqu'île de sable, séparée de la terre ferme par une dépression envahie par la mer, que l'on peut passer à gué.

D'après les renseignements recueillis auprès de l'administrateur, auprès du père de la mission catholique, auprès des commerçants et auprès d'une dame qui tient une sorte de dispensaire pour indigènes, il n'y a pas de malades du sommeil à Joal. Ceux qu'on y observe parfois ont contracté la maladie à Nianing qui jouit à cet égard de la plus mauvaise réputation. C'est ce


Poponguine
Keniabour
19° 20'
Guerréo
Riv. Somone
Sali-Portudal
Sali-Sossé
M'Bour
Marᵒᵗ de Balling
Nianing
N'Garobil
Joal
V. ROUSSEL.
I
Itinéraire suivi par la Mission.
Trypanosomiase humaine
Trypanosomiases animales

qu'on entend dire partout sur la Petite-Côte. Il est évident que Nianing est la région où l'on observe le plus grand nombre de cas de trypanosomiase, mais on peut trouver aussi en d'autres points de la Petite-Côte des malades autochtones isolés. Autour du fly-belt Nianing existe une zone d'endémicité plus atténuée dans laquelle on observe des cas erratiques, cette zone semble se prolonger au sud et rejoindre la zone d'endémicité de la Gambie anglaise, elle vient se confondre au nord de Rufisque avec la zone d'endémicité des Niayes.

D'ailleurs, à Joal, les indigènes et particulièrement les enfants présentent de l'hypertrophie ganglionnaire et les marabouts pratiquent couramment l'avulsion des ganglions cervicaux. On nous présente une fillette qui a subi cette opération. Un homme d'une quarantaine d'années nous est aussi présenté, porteur d'un ganglion cervical, gros comme une noix, dont l'apparition remonterait, d'après lui, à 10 ans. C'est manifestement un vieux syphilitique porteur d'exostoses aux tibias.

La personne qui tient le dispensaire, et à laquelle nous demandons son avis sur ce cas particulier, nous dit que ce sujet ne tardera pas à présenter du prurit et à dormir. « Il commence déjà, » ajoute-t-elle.

Nous examinons le sang qui ne montre ni agglutination globulaire ni parasites.

La lymphe ganglionnaire est également dépourvue de trypanosomes. Il n'y aurait plus en ce moment, à Joal, de malades présentant de l'hypnose.

La nuit précédente « une femme aurait succombé à la maladie contractée à Nianing ».

Nous nous trouvions en présence d'un problème difficile. L'examen direct du sang est, comme on le sait, le plus souvent négatif dans la trypanosomiase humaine.

Les auteurs anglais ont, par ailleurs, prétendu que les ganglions cervicaux hypertrophiés des malades renfermaient presque toujours des trypanosomes facilement décelables ; or la ponction ganglionnaire est une opération relativement simple et praticable en route ; mais, de notre côté, chez tous les malades que nous avions eu à traiter antérieurement, présentant des symptômes d'envahissement des méninges, tels qu'hypnose et troubles moteurs, nous n'avions jamais retrouvé de gros gan-

glions cervicaux et l'examen de la lymphe des petits ganglions de cette région s'était toujours montré négatif.

Le Dr Martin avait fait au Congo les mêmes observations. D'après lui on retrouve, le plus souvent, les trypanosomes dans les ganglions des malades ; mais il faut les chercher pendant plusieurs jours de suite et dans tous les ganglions, lorsqu'ils sont absents dans les ganglions cervicaux. Ces conclusions n'étaient pas faites pour rendre ce procédé de diagnostic très pratique en route. Restaient la ponction lombaire avec centrifugation du liquide céphalo-rachidien dans les cas où l'hypnose et les troubles moteurs existaient, ou alors la centrifugation du sang, procédé de choix d'après la mission du Congo, toutes deux opérations longues, mal acceptées par les indigènes et demandant une installation le plus souvent impossible à réaliser.

Ces considérations firent que les habitants de Joal ne furent pas examinés systématiquement par le procédé recommandé par les auteurs anglais, qui, nous le verrons plus loin, a été depuis employé constamment à notre entière satisfaction, au cours de notre tournée.

Entre Joal et Nianing, la région est très argileuse, la culture des arachides est impossible, mais on traverse à tout moment des rizières desséchées à sol glaiseux fendillé.

Nianing, bâti sur un terrain de même nature, était coupé, jusqu'à l'année dernière, par un ravin boisé récemment défriché. Le village indigène comptait autrefois 2.000 habitants ; il se trouve actuellement réduit à 150 par suite de la maladie.

Nous sommes très aimablement reçus par M. Segeur qui met la résidence à notre disposition et convoque tous les malades dormeurs connus, ainsi que les porteurs de gros ganglions. Nous nous disposons à pratiquer la centrifugation du sang ou la ponction lombaire. Cependant, nous commençons par l'examen direct du sang et la ponction des ganglions.

On nous présente 11 indigènes, parmi lesquels deux ont des phénomènes d'hypnose très marqués et ne portent que de très petits ganglions cervicaux.

Nous ponctionnons d'abord les plus gros et nous retrouvons *Trypanosoma gambiense* chez des sujets qui n'ont jamais dormi. Depuis, au cours de notre tournée, nous nous sommes attachés à rechercher l'agent infectieux chez tous les indigènes

porteurs de ganglions cervicaux volumineux, tout en notant les cas de maladie du sommeil cliniquement reconnaissables. Ces derniers, d'ailleurs, relativement beaucoup plus rares, ne renseigneraient pas suffisamment sur l'endémicité et l'extension de la maladie.

D'autre part, la constatation du trypanosome chez les malades dont les méninges sont envahies devient plus difficile par la raison que, très souvent, les ganglions semblent, à cette période de la maladie, moins volumineux et qu'ils sont moins souvent infectés. Les faits observés confirment les assertions, souvent répétées par les habitants du pays qui prétendent que les ganglions fondent lorsque les malades commencent à dormir.

Si donc, dans un hôpital, en présence de malades à symptômes médullaires bien déterminés, présentant des ganglions cervicaux peu volumineux, la ponction lombaire et la centrifugation du sang sont des procédés de choix, nous prétendons que ces procédés, inapplicables en route, doivent être remplacés, lorsqu'il s'agit de la détermination de l'infection d'une région, par la recherche et la ponction systématiques des gros ganglions cervicaux, chez tous les indigènes et même chez ceux qui n'ont jamais présenté d'hypnose.

Suivent les observations résumées en quelques lignes des malades dont l'infection a été vérifiée.

1. Makiro Fall, homme de 30 ans, né à Kelle dans le Cayor, venu à Nianing dans son enfance, y est resté depuis. Maladie ayant débuté par de la fièvre et de la fatigue généralisée pendant l'hivernage dernier. L'hypertrophie des ganglions cervicaux et sous-maxillaires a immédiatement suivi.

Trypanosomes rares dans les ganglions cervicaux.

Pas d'hypnose; appareil moteur en bon état: pas de tremblement fibrillaire de la langue.

2. Baitout Kahu, homme de 28 ans, né à Dakar, venu à Nianing à 16 ans, traitant employé chez M. Duclos, habite l'escale. A toujours eu la fièvre en hivernage, a senti une grande lassitude depuis février, présente des ganglions cervicaux de la grosseur d'une lentille, un ganglion sous-maxillaire de la grosseur d'une amande renfermant des trypanosomes rares.

Troubles psychiques depuis quelques jours[1]: manie de la persécution, a tiré des coups de revolver en ville. Pas de troubles moteurs ni d'hypnose.

3. Kaui Mariko, femme de 25 ans, captive venue de Mauritanie à

1 La folie due à la trypanosomiase humaine a été également signalée par la mission du Congo. *Bull. de la Soc. de path. exotique*, 11 mars 1908, p. 146.

Nianing il y a environ 3 ans. Accès de fièvre pendant l'hivernage avec engorgement consécutif des ganglions cervicaux et sous-maxillaires qui sont gros comme des amandes ; lassitude générale ; pas d'hypnose.

Trypanosomes rares dans les ganglions cervicaux.

4. Dioulé Diawa, enfant de 6 ans, né à Sali-Portudal, venu à Nianing il y a 4 ans. Fièvre pendant l'hivernage suivie d'engorgement ganglionnaire. Cet enfant a subi l'excision des ganglions cervicaux, il en reste quelques-uns à peine gros comme des pois, renfermant des trypanosomes très rares. Hypnose remontant à 4 mois; l'enfant s'endort aussitôt qu'il est assis.

5. Maladou Sakeliba, femme de 40 ans, née à Odienné (Soudan), venue à Nianing depuis 2 ans. Engorgement ganglionnaire datant de l'année dernière. Ganglions cervicaux gros comme des amandes, renfermant des trypanosomes nombreux. Ganglions sous-maxillaires, axillaires et inguinaux également hypertrophiés; pas d'hypnose.

6. Beyma Diarra, homme de 20 ans, né à Onorodougou (Soudan), habite Nianing depuis 3 ans. Malade depuis l'hivernage, a eu d'abord des accès de fièvre et des coliques. Il présente actuellement de très petits ganglions cervicaux dont l'examen reste négatif et qui auraient apparu depuis l'hivernage; quelques ganglions inguinaux; pas de ganglions axillaires. Hypnose accentuée, remontant à un mois ; le malade s'endort sur la voie publique.

7. Alamako Samaré, fillette de 11 ans, née à Saint-Louis, depuis 4 ans à Nianing. Accès fébriles au début du dernier hivernage; hypertrophie ganglionnaire datant de 2 mois; ganglions cervicaux et sous-maxillaires gros comme des haricots; un ganglion axillaire à droite hypertrophié ainsi que les ganglions inguinaux. Trypanosomes assez nombreux dans les ganglions cervicaux. Léger degré d'hypnose depuis le commencement du mois.

8. Birama Diarra, enfant de 10 ans, né à Saint-Louis, venu à Nianing depuis 3 ans. Accès fébriles pendant le dernier hivernage ; hypertrophie ganglionnaire consécutive. Un gros ganglion cervical à droite a montré de rares trypanosomes. Ganglions sous-maxillaires et inguinaux hypertrophiés, un gros ganglion axillaire à droite. Pas d'hypnose.

9. Oumar-Diaye, enfant d'un garde de cercle, cinq ans, né à Saint-Louis, venu il y a trois ans à Nianing, habite le camp des gardes à 20 mètres à peine de la mer. Fréquents accès de fièvre depuis deux ans. Hypertrophie ganglionnaire datant de 4 mois environ. A beaucoup maigri à deux reprises différentes; gros ganglions sous-maxillaires et cervicaux avec trypanosomes très rares. Pas d'hypnose.

Entre M'Bour et Nianing, le terrain devient plus sablonneux, mais on observe encore fréquemment des affleurements d'argile. On traverse, entre autres, un ravin argileux actuellement à sec et couvert d'efflorescences salines [1]. Au bord du marigot se trouvait, il y quinze ans, un important village

1. De tels ravins se nomment « tannes », altération du mot indigène tamna.

nommé Bolliny, qui a disparu à la suite de la maladie du sommeil.

M'Bour. Gros village de 900 habitants établi sur une dune de sable dans un endroit bien dégagé avec puits profonds de 15 mètres.

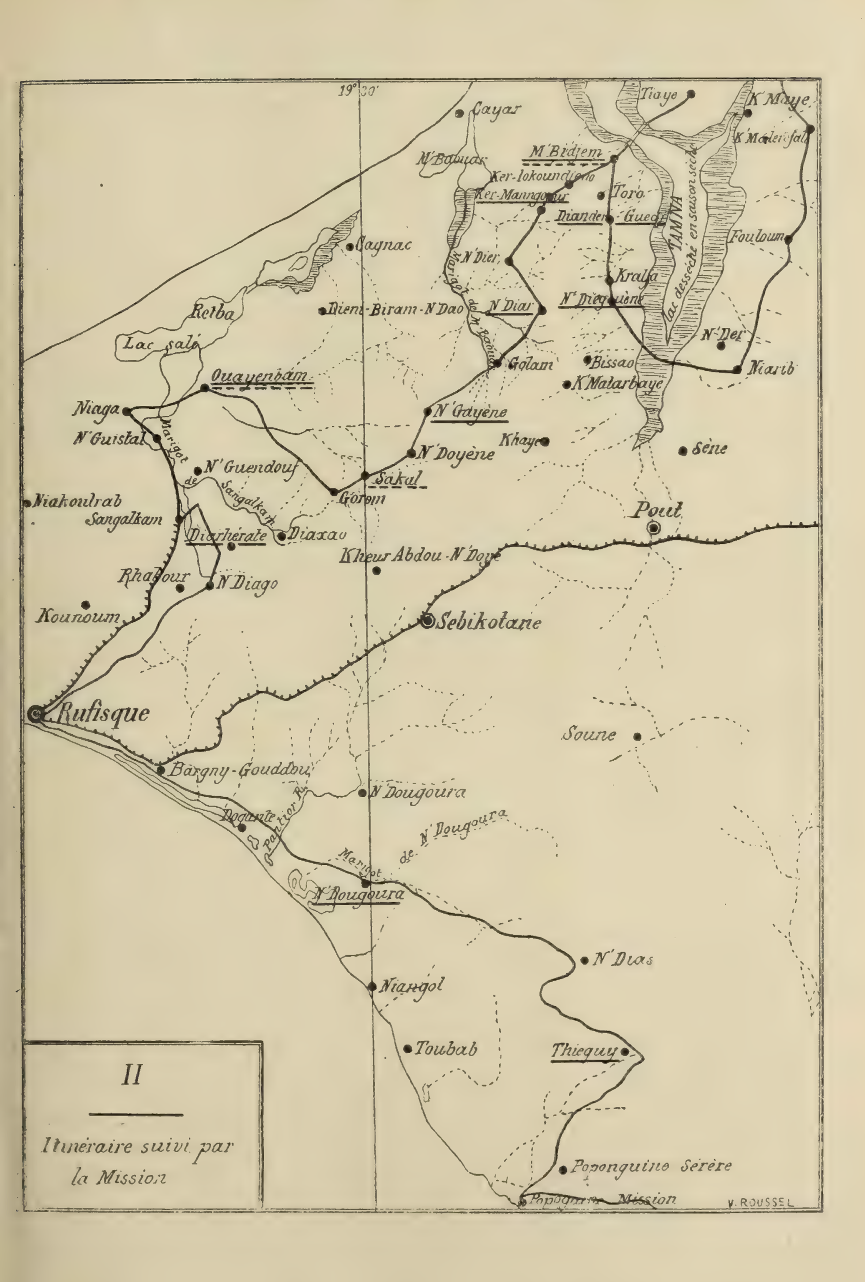
Nous trouvons peu de gros ganglions. Un assez grand nombre cependant de ganglions sous-maxillaires plus petits qu'à Nianing, particulièrement chez les enfants. Un indigène serait mort il y a 3 jours de la maladie du sommeil contractée à Nianing. Nous trouvons seulement 5 indigènes ayant de gros ganglions cervicaux et sous-maxillaires, dont la domestique du représentant de la maison Maurel et Prom, qui refuse de se laisser ponctionner.

Chez 2 indigènes les ganglions cervicaux sont ponctionnés, on retrouve chez l'un d'eux *Trypanosoma gambiense*.

10. Per. Let. homme de vingt-trois ans environ ; ganglions sous-maxillaires et cervicaux de la grosseur d'une amande, les derniers renfermant des trypanosomes très rares. Opacité de la cornée à gauche. Conjonctivite à droite. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

Sali-Portudal. Village peu important, ancien poste militaire, contemporain de Joal et comme lui considéré comme très atteint par la maladie du sommeil. Le village est établi en partie sur une dune (Sali-Sosse), en partie dans une vallée sablonneuse (Sali-Portudal). Nous voyons 36 habitants ; les autres sont occupés aux champs. L'un d'eux présente de gros ganglions cervicaux et sous-maxillaires avec œdème de la face et amaigrissement sans hypnose, nous pensons qu'il est atteint. Les nécessités de l'étape ne nous permettent pas de vérifier notre diagnostic au moyen de la ponction ganglionnaire.

Poponguine. 600 habitants environ. Village établi aux environs du Cap de Naze sur un sol composé de latérite. Population en bon état. Un grand nombre de ganglions sous-maxillaires volumineux que nous observons d'ailleurs sur toute notre route. Pas de gros ganglions cervicaux. 11 ganglions sous-maxillaires sont ponctionnés sans résultat. Nous pensons que l'hypertrophie de ces ganglions, si fréquente dans cette région chez les indigènes, et en particulier chez les enfants, est plutôt


19° 30'
Cayar
Tiaye
K'Maye
K'Malen fal
M'Bidjem
N'Bobuas
Ker-lokoundiono
Ker-Manngour
Toro
Dianden
Gued
TAMNA
lac desséché en saison sèche
Fouloum
Caynac
N'Dier
Marigot de N'Bobuas
Kralfa
Retba
Diem-Biram-N'Dao
N'Diar
N'Dieguène
Lac salé
N'Dei
Niarib
Golam
Bissao
K'Malarbaye
Ouayenbam
Niaga
N'Gayène
N'Guistal
Marigot de Sangalkam
Khaye
N'Doyène
Sène
N'Guendouf
Sakal
Gorom
Niakoulrab
Sangalkam
Pout
Diarhérate
Diaxao
Kheur Abdou-N'Doye
Rhabour
N'Diago
Kounoum
Sebikotane
Rufisque
Soune
Bargny-Gouddou
N'Dougoura
Dogunte
Marigot de N'Dougoura
N'Dougoura
N'Dias
Niangol
Toubab
Thieguy
II
Itinéraire suivi par la Mission
Poponguine Sérère
Popoguine Mission
V. ROUSSEL

due aux suppurations des yeux, des oreilles et du nez que l'on observe sur au moins 1/5 de la population.

Thieguy. Petit village distant d'environ 6 kilomètres, bâti dans une plaine bien dégagée, à sol composé de latérite, quelques bosquets humides composés de palmiers. Un indigène très cachectisé attire notre attention, quoique ne présentant qu'un très petit ganglion cervical.

11. M' Bat Goudine, homme de quarante-cinq ans, n'ayant pas quitté le village ou ses environs immédiats, malade depuis l'hivernage dernier, a beaucoup maigri, actuellement cachectique, présente un très petit ganglion cervical à droite avec trypanosomes très rares, pas d'hypnose, légère ataxie.

N' Dougoura. Agglomération de petits villages groupés dans une grande plaine sablonneuse ; à peu de distance se trouve le marigot à fonds argileuxde N' Dougoura, actuellement asséché. Population sale et mal tenue. Deux indigènes présentent de petits ganglions cervicaux renfermant des parasites ; un troisième, qui n'a que de petits ganglions sous-maxillaires, n'en montre pas.

12. Manda Diop, enfant de douze ans. Ganglions cervicaux petits, de la grosseur d'un pois; gros ganglions sous-maxillaires ; les ganglions cervicaux renferment des trypanosomes très rares. Pas d'hypnose, ni de troubles moteurs.

13. Fatou M'gone, fillette de douze ans. Ganglions cervicaux comme de petits haricots, avec trypanosomes rares. Quelques ganglions sous-maxillaires volumineux, principalement à gauche. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

A quelques kilomètres de N'Dougoura, en suivant la route de Rufisque, on traverse une grande plaine argileuse inondée pendant l'hivernage et dont la partie la plus déclive est occupée par le marigot permanent de Panntior.

Après 24 heures de séjour à Rufisque, pendant lesquelles nous voyons quelques malades venus de loin pour être traités à l'atoxyl par le Dr Ninaud, nous partons de nouveau pour entrer dans la région du Diander.

Diarhérate. Village situé sur une dune sablonneuse, à environ 1,500 mètres du marigot à fond argileux de Sangaleam que, depuis 1900, l'on sait être infesté par *Glossina palpalis*. I

abrite 300 habitants environ. Autrefois très prospère, ce village est actuellement très réduit par la maladie du sommeil.

On n'observe que de petits ganglions sous-maxillaires et de très rares ganglions cervicaux très petits, la plupart des habitants ayant subi l'exérèse ganglionnaire, d'autres ayant été traités à l'atoxyl par le Dr Ninaud, conditions qui rendent le diagnostic particulièrement difficile dans ce village. Une femme présente cependant des symptômes d'abattement et un engorgement ganglionnaire qui permettent d'établir un diagnostic clinique probablement exact; mais dans ce cas, comme dans 8 autres, la ponction ganglionnaire reste négative.

Nous retrouvons dans le village suivant un enfant originaire de Diarhérate, sur lequel nous pratiquons un examen positif.

14. Alionne-Diagne. Un ganglion carotidien profond, gros comme une noisette à gauche, renfermant des trypanosomes rares; pas d'hypnose ni d'ataxie, sujet en bon état, a subi à Rufisque 2 injections d'atoxyl il y a environ 1 mois, puis a cessé de se présenter au Dr Ninaud.

N'Guistal. Village peu important, comprenant à peine quelques cases, situé dans une plaine sablonneuse peu éloignée du marigot de Sangaleam. On n'y observe que des ganglions sous-maxillaires et quelques rares ganglions cervicaux très petits. 4 de ces derniers, examinés, ne renferment pas de trypanosomes. On ne trouve dans ce village que le cas erratique, venu de Diarhérate, mentionné ci-dessus.

Cependant 7 Peuhls, établis dans une petite agglomération de cases dans ce même village, sont morts l'année dernière de maladie du sommeil. De cette agglomération il ne reste qu'une femme indemne.

Niaga. Le village établi sur le sable, non loin du marigot de Sangaleam, est assez grand, il comprend environ 200 habitants.

Beaucoup d'indigènes auraient émigré l'année précédente, à la suite d'une mauvaise récolte, on n'y observerait pas de maladie du sommeil, pas de gros ganglions cervicaux. L'examen de 6 petits ganglions reste négatif.

Ouayenbam. Grand village situé dans une plaine ondulée, sablonneuse, voisin également du marigot de Sangaleam, comptant 250 habitants, a perdu beaucoup de son importance. Gros ganglions sous-maxillaires fréquents, ganglions cervicaux petits et rares. Un seul indigène infecté fut examiné.

15. Dembané Wade, enfant de 10 ans environ, ganglions sous-maxillaires volumineux; un seul ganglion cervical, à gauche, gros comme un pois, renfermant des trypanosomes rares. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

Sakal. Village peu important, situé sur une hauteur sablonneuse, à l'extrémité d'une grande plaine à sol de même nature, et à 200 mètres environ d'un marigot argileux, desséché actuellement et dépendant du marigot de Sangaleam. 5 enfants, porteurs de petits ganglions sous-maxillaires et cervicaux, sont examinés avec résultat négatif. Cependant, de temps en temps, on observerait des cas de trypanosomiase humaine dans ce village, et le chef aurait perdu, depuis ces dernières années, de la maladie du sommeil, un fils et un cousin. A *Gorom*, village distant de 1 kilomètre, situé sur le même marigot, il y aurait eu également un cas l'année dernière.

N'Gayène. Village établi dans une région sablonneuse, placé à égale distance de la fin des marigots de Sangaleam et de M'Baouar, qui, tous les deux, hébergent des tsétsé. Ganglions cervicaux et sous-maxillaires volumineux et nombreux. 5 examens positifs sur 10.

16. Bougouma Gaye, homme de 35 ans environ. Ganglions sous maxillaires assez gros, ganglions cervicaux petits, d'un accès difficile, 1 ganglion sus-scapulaire gros comme un haricot à droite, renferme des trypanosomes rares. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

17. Toute N'Diaye, femme du précédent. Ganglions cervicaux et sus-scapulaires de la grosseur d'une noisette, ganglion cervical avec trypanosomes rares à droite. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

18. Aissata Gaye, femme de 25 ans environ, ganglions cervicaux de la grosseur d'une noisette, avec trypanosomes assez nombreux. Ganglions sous-maxillaires gros et nombreux. Hypnose assez accentuée.

19. Momar Faye, homme de 30 ans environ. Gros ganglions cervicaux avec trypanosomes rares à droite, ganglions cervicaux plus petits à gauche. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

20. Momar Gaye, homme de 25 ans environ. Ganglions cervicaux gros comme des noisettes des 2 côtés, avec trypanosomes rares à gauche. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

N'Diar. Village assez important, établi dans une région sablonneuse, à 1 kilomètre environ au sud de la branche méridionale actuellement désséchée du marigot à fond argileux de M'Baouar. Quelques gros ganglions cervicaux, ganglions sous-maxillaires nombreux. 4 ponctions positives sur 7 examens.

21. Oumar N'Diop, homme de 25 ans environ. Ganglions gros comme des haricots des deux côtés, principalement à droite, renfermant des trypanosomes rares, a déjà subi il y a un an l'exerèse ganglionnaire. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

22. Sokna Kandé, femme de 20 ans environ. Très petits ganglions cervicaux des 2 côtés, avec trypanosomes rares à droite. Hypnose légère, ataxie et amaigrissement, maladie datant de 2 ans, l'hypnose ayant débuté il y a un an.

23. Kate Six, femme de 28 ans environ. Gros ganglions cervicaux et sous-maxillaires des 2 côtés, les ganglions cervicaux renferment des trypanosomes rares à droite. Hypnose légère, pas d'ataxie.

24. Ah. Sate, homme de 30 ans environ. Gros ganglions cervicaux et sous-maxillaires, les ganglions cervicaux renferment des trypanosomes rares. Pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

M'Bidjem. Village important, ancien poste militaire situé sur un plateau sablonneux dominant la Tamna. Au nord se trouve un marigot bourbeux à fond argileux, recouvert d'humus. Gros ganglions cervicaux dans un seul cas, ganglions sous-maxillaires nombreux. Ponction ganglionnaire positive dans un cas sur 8.

25. Binta-Deng, femme de 25 ans environ. Ganglions cervicaux gros comme des amandes, des deux côtés, avec trypanosomes rares. Hypnose légère. A perdu son mari il y a un an de la maladie du sommeil. Nourrit un enfant de un an.

Ker-Mangour. Très petit village situé sur un plateau sablonneux, au nord d'une grande plaine bornée par une branche du marigot argileux de M'Baouar, actuellement desséché. Gros ganglions sous-maxillaires nombreux, quelques gros ganglions cervicaux positifs dans deux cas, sur 6 indigènes examinés. Un malade présente de l'hypnose sans ganglions ponctionnables.

26. Awa N'Diaye, femme de 20 ans environ. Ganglions cervicaux de la grosseur d'un haricot, avec trypanosomes rares, ganglions sous-maxillaires de la grosseur d'une fève, pas d'hypnose; femme du suivant.

27. Sega Gaye, homme de 30 ans environ. Présente de l'hypnose à la dernière période, ataxie, pas de ganglions ponctionnables.

28. Ganna Diop, enfant de 10 ans environ. Ganglions sous-maxillaires et cervicaux gros comme des noisettes, avec trypanosomes assez nombreux; œdème des paupières, pas d'hypnose ni de troubles moteurs.

Ker-Iokoundieng. Petit village situé sur le même plateau, plus éloigné du marigot de M'Baouar que le précédent. Ganglions

très petits et très peu nombreux dont l'examen reste négatif dans 8 cas.

Tiaye. Petit village situé sur un plateau sablonneux au nord de la Tamna, en face de M'Tidjem; on n'y observe pas de ganglions hypertrophiés, la ponction de 4 petits ganglions cervicaux reste négative.

Diander Guedj. Village établi dans une plaine sablonneuse, à proximité d'un marigot actuellement desséché qui se déverse dans la Tamna, et distant de 1,500 mètres seulement de l'extrémité d'une des branches du marigot de M'Baouar. Quelques gros ganglions cervicaux dont l'examen est positif dans 3 cas sur 5.

29. Koudia Sow, femme de 22 ans environ. Ganglions cervicaux du volume d'un haricot, avec trypanosomes rares à gauche, pas de ganglions sous-maxillaires. Hypnose légère.

30. Momar Low, homme de 30 ans environ. Un gros ganglion cervical à droite avec trypanosomes assez nombreux, un gros ganglion sous-maxillaire à gauche. légère opacité de la cornée du même côté. Pas d'hypnose.

31. M'Bayam Diop, fillette de 8 ans environ. Gros ganglions cervicaux des deux côtés; l'un d'eux à droite atteint le volume d'une noisette, il renferme des trypanosomes non rares. Pas d'hypnose.

N'Dieguène. Village assez important établi sur un plateau sablonneux. sur les bords de la Tamna. Entre N'Dieguène et Diander-Guedj, on traverse un marigot à fond argileux et humide, qui se jette dans la Tamna. Quelques gros ganglions cervicaux et sous-maxillaires. 2 cas positifs sur 5 ponctions. Un malade atteint d'hypnose, sans ganglions ponctionnables.

32. Yacène Guège, fillette de 10 ans environ. Ganglions cervicaux des 2 côtés, gros comme des haricots, renfermant des trypanosomes rares, pas de ganglions sous-maxillaires, hypnose assez accentuée, légère ataxie.

33. Aissata Thioume, femme de 25 ans environ. Ganglions cervicaux gros comme des noisettes, des 2 côtés, avec trypanosomes assez nombreux. Ganglions sous-maxillaires hypertrophiés. Pas d'hypnose.

34. Ganne Poug, homme de 32 ans environ. Présente une hypnose marquée sans ganglions ponctionnables.

De N'Dieguène à Niarib, on traverse le lit desséché de la Tamna à son extrémité Sud.

Le village de *Niarib*, assez important, est situé un peu au-dessus de la cuvette voisine, sur un terrain sablonneux sec où

l'on remarque l'absence des palmiers, remplacés par des baobabs. Ganglions cervicaux peu nombreux, très petits, 6 sont ponctionnés sans résultat.

Fouloum. Petit village placé dans une situation analogue sur un terrain sablonneux ; peu de ganglions cervicaux très petits, ganglions sous-maxillaires assez gros. 4 ponctions restent négatives. Chez un enfant on trouve des ganglions cervicaux volumineux positifs, mais cet enfant a été contaminé à Saou.

35. Yaré Diop, enfant de 12 ans environ. Ganglions cervicaux de la grosseur de haricots, des 2 côtés, avec trypanosomes non rares, œdème des paupières, pas d'hypnose. Est venu de Saou 2 mois avant l'hivernage dernier, ayant déjà de gros ganglions et de l'œdème des paupières.

N'Guick. Village important, bâti sur une dune au milieu d'une vaste plaine ondulée couverte de broussailles où se rencontrent, parmi d'autres essences, quelques palmiers à huile et des lianes à caoutchouc du genre Landolphia, on n'y observe pas de gros ganglions cervicaux. Une seule femme présente un ganglion cervical assez volumineux dont la ponction reste négative, 8 ganglions sous-maxillaires sont ponctionnés avec résultat négatif.

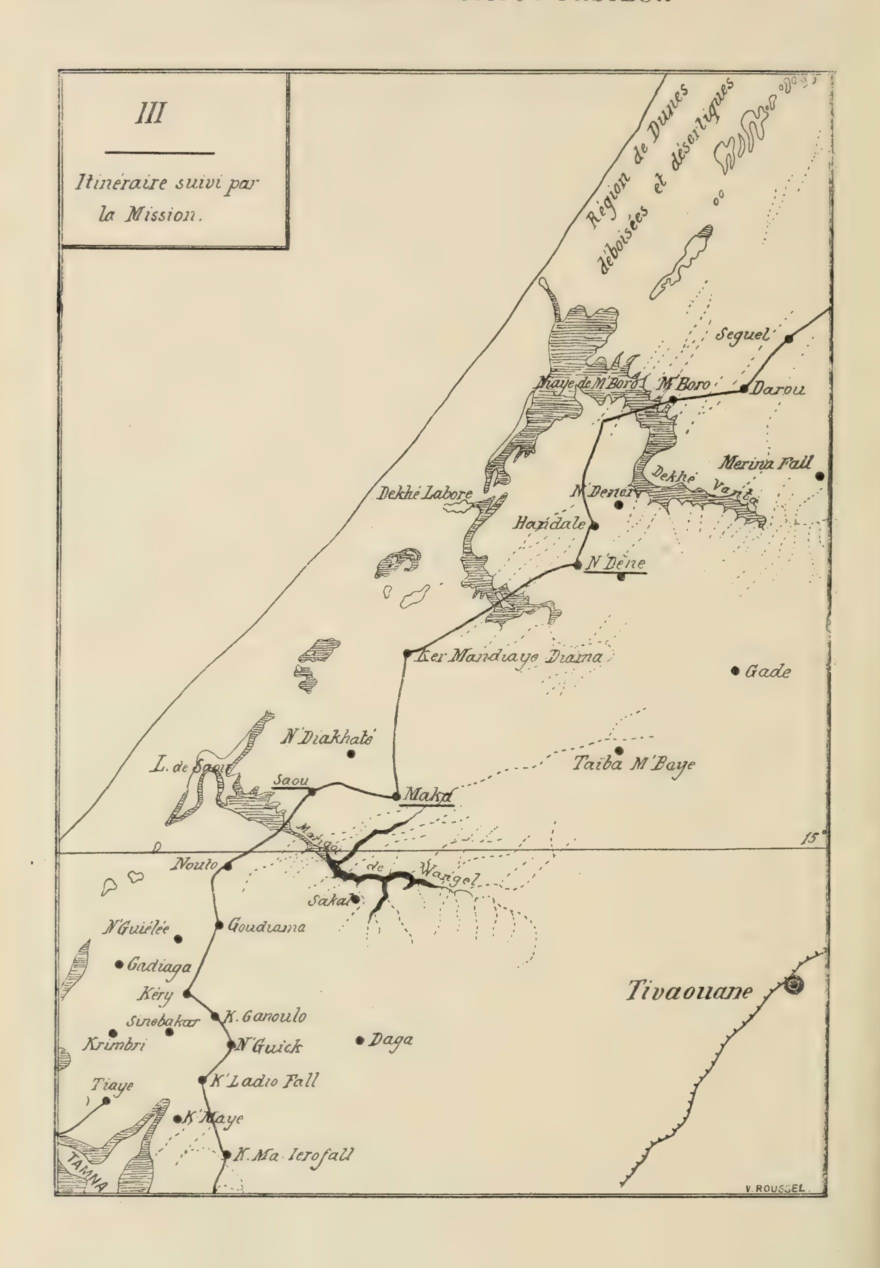
Nouto. Village assez important, bâti sur un plateau sablonneux. Avant d'arriver au village on traverse quelques affleurements d'argile où sont creusés des séanes (mares ou puits indigènes). Pas de marigot dans les environs. Depuis plus de 30 ans que le village existe, on n'y aurait jamais constaté de maladie du sommeil. Pas de ganglions cervicaux volumineux. 5 petits ganglions sont ponctionnés sans résultat.

On trouve de gros ganglions cervicaux avec trypanosomes chez une femme qui a contracté l'affection à Maca.

36 Founi M'Doye, femme de 23 ans environ. Ganglions cervicaux gros comme des noisettes, avec trypanosomes rares, ganglions sous-maxillaires volumineux. Pas d'hypnose.

Goudiama. Village assez important, situé sur le même plateau, à environ 1 kilomètre. On n'observe pas de gros ganglions cervicaux chez les habitants de ce village.

Saou. Petit village installé sur un plateau sablonneux, environné de tous côtés, et à courte distance, de marigots argileux


III
Itinéraire suivi par la Mission.
Région de Dunes déboisées et désertiques
Seguel
Niaye de M'Boro
M'Boro
Darou
Merina Fall
Dekhé Labore
N'Deneri
Dekhé Vanta
Handale
N'Dene
Ker Mandiaye Diama
Gade
N'Diakhaté
L. de Saou
Saou
Maka
Taiba M'Baye
15°
Nouto
de
Wangel
Sakal
N'Guiélée
Goudiama
Gadiaga
Kéry
Tivaouane
K. Ganoulo
Sinebakar
Krimbri
N'Guick
Daga
K'Ladio Fall
Tiaye
K'Maye
K. Ma. Ierofall
TAMNA
V. ROUSSEL

et boisés, diverticules du marigot de Wangel, reconnu par nous comme infecté de tsétsé. Le village était, il y a 4 ans, tout au bord du marigot, il a émigré à la suite de la maladie du sommeil à l'emplacement actuel, où il est encore décimé.

Saou possédait autrefois 400 habitants, actuellement on en compte à peine 80. Gros ganglions cervicaux en assez forte proportion, 6 ponctions positives sur 19. Hypnose légère dans 4 cas.

37. Dombou-Wade, femme de 30 ans environ. Ganglions cervicaux de la grosseur d'une amande, des 2 côtés, avec trypanosomes rares; ganglions sous-maxillaires volumineux. Pas d'hypnose.

38. Bougouma N'Diaye, fillette de 12 ans environ. Petits ganglions cervicaux des 2 côtés. Un ganglion post-auriculaire à gauche, gros comme un haricot avec trypanosomes rares. Ganglions sous-maxillaires gros comme des noisettes. Hypnose légère.

39. Goué N'Diaye, femme de 25 ans environ. Ganglions cervicaux petits à droite, de la grosseur d'une amande à gauche, trypanosomes très rares. Pas d'hypnose.

40. Mademba Thioume. Enfant de 12 ans environ. Ganglions cervicaux comme des haricots des 2 côtés, avec trypanosomes non rares, ganglions sous-maxillaires volumineux. Amaigrissement notable, hypnose assez marquée, pas de troubles moteurs.

41. N'Goué Cissé, femme de 25 ans environ. Ganglions cervicaux petits, pas de ganglions sous-maxillaires. Un ganglion sus-scapulaire gros comme une amande, renfermant des trypanosomes très rares. Hypnose très prononcée; légère ataxie.

42. Fatou-Dieng, fillette de 11 ans environ. Ganglions cervicaux petits, un ganglion sus-scapulaire gros comme un haricot avec trypanosomes rares à droite. Œdème des paupières, légère ataxie.

Maka, petit village aux abords bien dégagés, établi sur un plateau sablonneux à 1,500 mètres environ de la branche nord du marigot de Wangel. Gros ganglions cervicaux rares. Une ponction positive sur 8 examens.

43. Aram Tope, femme de 38 ans. Ganglions cervicaux gros comme des haricots des deux côtés, avec trypanosomes rares, ganglions sous-maxillaires gros comme des amandes. Pas d'hypnose.

N'Dène, village situé sur un plateau bien dégagé, environné cependant, à une assez grande distance, de bas-fonds boisés ou Niayes dans lesquels nous n'avons pas pu trouver de tsétsé. Peu de gros ganglions cervicaux. Une ponction positive sur 8 examens.

44. Dios N'Diague, femme de 24 ans environ. Ganglions cervicaux gros comme des haricots des deux côtés, avec trypanosomes rares. Pas d'hypnose. Cette femme n'a jamais quitté son village : c'est donc bien un cas autochtone.

Seguel. Grand village situé sur un plateau sablonneux bien dégagé et balayé par le vent. Pas de gros ganglions cervicaux. Une femme qui n'avait jamais quitté le village serait cependant morte de la maladie du sommeil, il y a un mois, avec hypnose et hypertrophie ganglionnaire.

Entre N'Dène et Seguel nous traversons le dernier ravin boisé (Niaye de M'Boro). A partir de ce point, les bas-fonds marécageux qui bordent la côte sont tous déboisés, ils constituent des étangs remplis de roseaux. Les marigots, autrefois leurs tributaires, également déboisés, sont complètement desséchés et ont été, sur certains points, en partie comblés par le mouvement des dunes. Depuis M'Boro, on n'observe plus ni maladie du sommeil, ni tsétsé, mais le déboisement, qui s'est montré efficace pour faire disparaître la maladie du sommeil, a transformé la région en un véritable désert que l'on traverse jusqu'à Soucoundou.

De Soucoundou à l'embouchure du Sénégal, on retrouve quelques arbres, dont des palmiers. Le sol sablonneux est coupé de tannes argileux. La région semble cependant trop plate et trop découverte pour servir d'asile aux tsétsé. On n'y aurait jamais observé de maladie du sommeil.

Nous relevons, dans les observations précédentes, trois cas de contagion de mari à femme, à N'Gayène, Ker-Mangour et M'Bidjem. Nous ne pensons pas qu'ils puissent être attribués à une autre cause qu'aux glossines, quoiqu'on ne trouve actuellement ces mouches qu'avec l'eau et à une distance d'environ 1,500 mètres des villages. On ne doit pas oublier, en effet, qu'en saison des pluies ils sont placés, par suite des inondations, tout au bord de l'eau. Les glossines entrent alors dans les cases, ainsi que cela a été observé et relaté en 1906 [1] pour Nianing où la résidence, située seulement à 8 mètres de la limite de la haute mer, était envahie.

L'examen direct du sang, pratiqué dans 40 cas, s'est constam-

1. Thiroux et Teppaz, Trypanosomiases animales au Sénégal, *Ann. de l'Institut Pasteur*, mars 1907.

ment montré négatif. D'après les renseignements qui nous ont été donnés, l'infection se produirait presque toujours au moment de la saison des pluies.

A cette époque on aurait, à notre avis, plus de chances pour trouver à l'examen direct du sang *Trypanosoma gambiense*, qui doit n'y être décelable que pendant un temps relativement court. A cette période d'infection sanguine, plus ou moins intense selon le nombre des inoculations positives, succéderait la phase que nous avons observée, analogue à la période d'envahissement ganglionnaire de la syphilis. Souvent enfin l'engorgement ganglionnaire disparaîtrait au moment où les phénomènes d'hypnose et d'infection des méninges apparaissent, ou plus exactement lorsqu'ils deviennent très accentués.

Les ganglions cervicaux, et après eux les ganglions sus-scapulaires (chaîne trapézo-mastoïdienne), ont été ceux qui nous ont fourni le plus grand nombre d'observations positives. Dans un seul cas, malgré de très nombreuses tentatives, nous avons retrouvé des trypanosomes dans un ganglion sous-maxillaire. Aussi, à la fin de notre tournée, avions-nous presque complètement abandonné leur examen, et préférions-nous, même en présence de très gros ganglions sous-maxillaires, ponctionner un ganglion cervical très petit.

Sur 44 indigènes chez lesquels ont été pratiquées des ponctions ganglionnaires positives, ou chez des malades reconnus cliniquement atteints, 30, soit plus des 2/3, ne présentaient pas d'autres signes de trypanosomiase que l'hypertrophie des ganglions; 11 indigènes ayant une hypnose légère étaient porteurs de ganglions infectés, souvent très petits.

Enfin, chez trois indigènes présentant une hypnose très accentuée, les ganglions n'étaient pas ponctionnables ou ne renfermaient pas de trypanosomes.

En nous bornant à rechercher seulement les cas de maladie du sommeil bien déterminés, nous aurions donc vu moins du iers des malades et nous n'aurions pu jalonner, ainsi que nous l'avons fait, notre route.

D'autre part, quand on demande à un chef de village s'il y a des malades, il n'y en a jamais. L'examen des ganglions de tous les habitants force les sujets atteints à sortir et à se montrer et lorsque les indigènes, qui sont méfiants au premier abord, se

rendent compte que nous savons trouver nous-mêmes les personnes atteintes, ils finissent par prendre confiance et par les amener eux-mêmes.

Le village le plus contaminé est Nianing, pour la Petite-Côte; pour le Diander, les villages les plus atteints sont : Diarhérate, N'Gayène, N'Diar, Kermangour, Diander-Guedj et N'Dieguène; au nord de la Tamna, Saou représente un des points les plus sérieusement frappés.

RECHERCHE DES MOUCHES PIQUANTES ET EN PARTICULIER DES GLOSSINES

Les mouches piquantes, et en particulier les tsétsé, sont rares à l'époque où nous avons fait notre tournée (avril). On n'observe jamais, en route, sur les animaux de la mission, que des stomoxes ou des lyperosia. Tabanides et glossines se trouvent cantonnés dans les endroits frais, là où un fond argileux retient encore un peu d'humidité à la surface du sol. Les filets ou les flaques d'eau qui persistent sur le cours des marigots argileux actuellement desséchés, leur tiennent lieu de dernier refuge. Souvent les indigènes créent eux-mêmes, soit dans ces marigots, soit auprès des villages, les petites mares où vont se reproduire les glossines, en creusant dans l'argile des trous nommés séanes où ils vont puiser l'eau nécessaire à leur consommation. Auprès de Kermangour, dans le marigot de M'Baouar, c'est uniquement auprès d'un trou de cette sorte, d'un mètre carré environ, que nous récoltons des tsétsé.

Les noirs s'étendent souvent à l'ombre, à côté des séanes, soit en venant chercher de l'eau, soit en venant laver; ils s'y endorment et sont la proie offerte aux mouches. Ils se rendent cependant quelquefois compte de ce que ces mares sont dangereuses. Les habitants de Nianing avaient accusé les indigènes de race Sérère d'avoir empoisonné les séanes; M. l'administrateur Aubry le Comte, les fit combler et obligea tous les habitants de Nianing à venir à un puits profond construit par ses soins. Le chef du village de Fouloum nous déclare que ses administrés n'ont pas la maladie du sommeil, parce qu'ils ne boivent pas l'eau des séanes. Les séanes abritées par les arbres, et surtout par la broussaille, sont plus dangereuses que les séanes découvertes aux environs immédiats des

villages autour desquelles nous n'avons pas pu trouver de glossines. Ces dernières peuvent cependant devenir également dangereuses lorsqu'elles se couvrent de végétation pendant la saison des pluies; c'est d'ailleurs un fait connu depuis quelques années que c'est dans la broussaille peu élevée, et non sur les arbres, que se tiennent les tsétsé aux environs des points d'eau. Le meilleur moyen d'en capturer est d'installer un enfant indigène au voisinage d'un point d'eau bien abrité et de remuer les buissons, principalement les palmiers nains qu'elles semblent affectionner plus particulièrement. Les enfants indigènes qui nous accompagnent prétendent que les tsétsé sont les mouches qui piquent habituellement les singes.

Les tabanides semblent encore plus rares en saison sèche que les tsétsé, ils se réfugient aussi à côté des trous d'eau. Nous avons seulement capturé aux environs de Kermangour, dans le marigot de M'Baouar de petits Tabanus et 2 Hématopota sp.?

La présence de la trypanosomiase humaine est entièrement liée à celle des glossines, dont l'habitat coïncide avec les affleurements d'argile : banc argileux qui s'étend de Joal à Nianing, infecté par *Glossina palpalis* et *Glossina longipalpis* dont nous avons rapporté plusieurs spécimens, marigot argileux de N'Dougouma et plaine argileuse de la rivière Panutia aux environs du N'Dougoura pour la Petite-Côte. Dans les Niayes, les villages reconnus atteints sont tous situés à proximité (1,500 mètres au maximum) d'un des trois marigots à fonds argileux de Sangaleam, de M'Baouar ou de Wangel, dans lesquels nous avons pu retrouver *Glossina palpalis*, *Glossina longipalpis* et deux glossines sp.?

La zone infectée par les glossines et la trypanosomiase humaine s'étend tout le long de la Petite Côte, vraisemblablement elle va rejoindre au sud la Gambie anglaise et la Casamance. Sa profondeur semble être limitée par les sources des marigots peu importants qui se jettent dans la mer ou dans les lagunes qui bordent une partie de la côte. Il est possible qu'elle s'élargisse au niveau de la rivière Saloum pour embrasser une partie du Nianiouli et venir se confondre avec les limites de la Gambie anglaise.

Au nord elle se continue par les Niayes jusqu'à 100 kilo-

mètres de la presqu'île de Dakar, un peu au-dessus du 15e degré de latitude nord, point à partir duquel les Niayes ayant été déboisées, les marigots tributaires des lagunes se sont desséchés. En largeur, la région contaminée des Niayes ne s'étend pas à plus de 10 kilomètres de la mer, elle est bornée par les sources des marigots infectés, et n'atteint même pas la voie ferrée de Dakar à Saint-Louis, qui la borde à l'est.

MESURES PROPHYLACTIQUES

Les mesures que nous indiquons ci-après n'ont rien d'absolu. Strictement appliquées, elles réduiront dans une très notable proportion le nombre des cas de trypanosomiase humaine et rendront habitables des régions actuellement décimées. Il ne faut pas cependant compter qu'elles feront disparaître complètement maladie du sommeil et tsétsé. Une seule mesure pourrait amener pareil résultat : ce serait un déboisement complet; elle entraînerait avec elle la stérilisation de la région et la mobilisation des dunes de sable qui ont transformé en un désert la région comprise entre M'Betete et Soucoundou.

Ce que l'on peut faire actuellement, c'est débroussailler les environs immédiats des villages dans un rayon de 2 kilomètres en faisant surtout couper la petite brousse et en ménageant les arbres à partir de 3 mètres de hauteur.

Nous savons qu'il sera très difficile d'obtenir des indigènes, d'ailleurs quelquefois trop peu nombreux pour cela, un travail de défrichement à la hache et à la pioche. Le débroussaillement par le feu, le seul pratiqué par les noirs, a l'inconvénient de détruire les grands arbres qu'il y aurait intérêt à conserver. Il appartiendra à l'administration de faire son possible pour obtenir un travail capable d'assainir le pays sans nuire à la fertilité du sol.

Il y aurait lieu également de pourvoir tous les villages de puits profonds et de conseiller aux indigènes d'éviter d'aller puiser de l'eau dans les marigots infectés. Il serait ensuite nécessaire de combler toutes les mares ou séanes qui leur servent actuellement à s'alimenter et surtout celles qui sont creusées dans le lit même des marigots à mouches. Se conformant aux mesures que nous avions indiquées en 1906,

M. le Résident de Nianing a fait complètement déboiser, l'année dernière, le ravin qui coupait en deux le village. Depuis que ce travail a été effectué il ne peut plus, nous dit-il, se faire apporter, même en la payant 25 centimes, une seule mouche tsétsé, alors qu'autrefois elles étaient très communes.

Il est vrai que nous sommes en saison sèche et que si l'on ne trouve plus de glossines dans le village de Nianing, M. Segeur, a pris dans les environs une *Glossina palpalis* au mois de janvier dernier.

Le prochain hivernage nous renseignera plus exactement et nous apprendra si les tsétsé qui envahissaient autrefois la résidence, à 8 mètres de la limite des hautes marées, sont toujours aussi nombreuses.

Il reste encore quelque chose à faire à Nianing. Les abords du village, en particulier derrière le village bambara, ne sont pas encore assez dégagés; il y a lieu surtout de les débarrasser de la petite brousse.

Le comblement des séanes et l'établissement de puits profonds a été une excellente mesure; cependant le puits de l'administration est trop large. Il a l'inconvénient de n'être pas assez obscur pour n'être pas fréquenté par les mouches. Et de plus les briques creuses dont il est construit constituent sur les parois une multitude de petites alvéoles humides, éminemment favorables à la reproduction des tsétsé.

Une dernière mesure, complétant les précédentes, consisterait à créer, en dehors des régions à mouches, des villages où les malades pourraient être visités régulièrement, étudiés et traités. Cette création aurait le double avantage de les faire sortir des régions où ils constituent un réservoir de virus dangereux et de permettre d'avoir sous la main un nombre de sujets suffisant pour se rendre compte de la valeur des diverses médications proposées jusqu'à ce jour. Après un peu d'hésitation, les indigènes qui vont quelquefois très loin pour se faire enlever les ganglions cervicaux par des empiriques, ce qui d'ailleurs ne les empêche pas de mourir de la maladie du sommeil, ne tarderaient pas à affluer et lorsque un certain nombre d'entre eux auraient été améliorés ou peut-être même guéris, le succès serait assuré. On peut déjà s'en rendre compte en voyant des malades venir de très loin demander au Dr Ninaud des injections

d'atoxyl. Ces malades ne sont malheureusement pas assez suivis. Un grand nombre d'entre eux cessent un beau jour de venir. Une organisation plus complète est nécessaire, elle doit trouver sa place à côté d'un laboratoire.

II

TRYPANOSOMIASES ANIMALES

Les trypanosomiases animales sont rares en saison sèche, les animaux atteints meurent d'habitude en fin d'hivernage et ne conservent pas, comme l'homme, dans leurs ganglions la preuve de l'infection du pays. Il est cependant intéressant de constater que dans toute la région où se recontrent maladie du sommeil et glossines, les moutons ne peuvent pas vivre, *que les chiens meurent en quantité considérable dans les villages les plus atteints par la trypanosomiase humaine* et que les bœufs zébus s'acclimatent si difficilement que les indigènes les croisent afin d'élever la taille de leurs animaux avec la race N'Bama beaucoup plus résistante, la seule que l'on rencontre en Gambie et en Casamance.

A la Petite-Côte, les animaux sont plus particulièrement frappés. A Joal, le même propriétaire a perdu, l'année dernière, 52 ânes; cette année il en a perdu 16; chez un des trois qui lui restent, nous retrouvons *Trypanosoma Cazalboui.*

A Nianing, un commerçant a perdu 30 moutons sur un lot de 60, nous examinons 13 de ceux qui lui restent : il sont atteints de Souma. Les grands moutons maures et les petits moutons toucouleurs sont également atteints. Dans un petit troupeau de bœufs appartenant au même propriétaire, nous trouvons un zébu malade porteur également de *Trypanosoma Cazalboui.* Un chien appartenant à la même personne est atteint de Baléri (*Trypanosoma Pecaudi*). Un âne et un cheval sont aussi contaminés de Souma. C'est d'ailleurs un fait connu que les chevaux ne vivent pas à Nianing, on peut en conserver quelques-uns en bon état pendant la saison sèche, mais bien peu passent la saison des pluies sans être atteints de Souma ou de Baléri.

A Poponguine, un commerçant nous apprend que, l'année

dernière, il a perdu au mois d'avril 10 moutons qu'il venait d'acheter.

Dans la région des Niayes, nous avons observé, à Ouayenbam, chez un bœuf, un trypanosome très long qui nous a semblé se rapprocher de *Trypanosoma Theileri*, et chez un mouton, à Sakal, *Trypanosoma dimorphon*. A M'Bidjem, un chien a également présenté des trypanosomes très rares, qui ont disparu depuis et n'ont pas encore pu être déterminés.

Plus de 300 animaux ont été examinés dans la région des Niayes, avec examen positif seulement dans trois cas. La saison n'est évidemment pas propice pour se rendre compte de ce qui se passe sur le bétail, qu'il faudrait revoir en fin d'hivernage, au moment où les tsétsé pullulent depuis 4 mois. De plus, l'indigène a su sélectionner son bétail et ne conserver que les races peu sensibles, lesquelles peuvent toutefois constituer vis-à-vis des autres des réservoirs de virus très dangereux.

On peut cependant conclure, d'après surtout ce qui a été constaté à la Petite-Côte, que les zébus et les moutons ne vivent pas dans ces régions à cause des trypanosomiases et de la présence des glossines. Il est même intéressant de constater qu'à la Petite-Côte, de même que sur le Niger, la zone dans laquelle sévit la Souma ne dépasse pas les régions à tsétsé et que, si les stomoxes, répandus dans tout le Sénégal, peuvent remplir le rôle de transmetteurs, ils ne le font que dans certaines conditions de voisinage ou de stabulation, qui donnent à penser qu'ils ne constituent que des lancettes très imparfaites et qu'ils ne sauraient à eux seuls entretenir la maladie dans une région un peu étendue. Le remplacement des zébus par les M'Bamas, ou les croisés de M'Bamas, entraîne le manque de lait dans la région de la côte située au Sud du 15e degré de latitude Nord, la race M'Bama ne donnant que de mauvaises laitières.

Les mesures à appliquer au bétail ont déjà été prises en partie par les indigènes en ce qui concerne les bovidés. Elles doivent surtout tendre à introduire les races du Sud, qui ont déjà subi une sélection naturelle et sont plus résistantes aux trypanosomiases à tsétsé. M. Bancal a fait un essai sur les moutons et il prétend que le mouton du Dahomey s'acclimate très bien dans la région des Niayes, où ne peuvent pas vivre les moutons des régions plus méridionales.

Sur l'action bactéricide de l'extrait leucocytaire des lapins et des cobayes.

Par le Dr C. V. KORSCHUN

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

Buchner attribue l'action bactéricide des sérums sanguins normaux à une substance spéciale, qu'il appelle l'alexine. Cette substance, d'après lui, circule à l'état libre dans le sang et sert à la défense de l'organisme contre l'envahissement des microbes. Toutefois, sous l'influence des travaux de M. Metchnikoff et de ses élèves, Buchner a dû reconnaître aussi aux leucocytes un certain rôle dans la lutte de l'organisme contre l'infection. Mais il n'admet pas la théorie bien connue de M. Metchnikoff; d'après celle-ci, tout le processus de la lutte de l'organisme contre l'infection consiste dans la lutte entre les leucocytes et les principes infectants ou microbes ; le principe bactéricide est contenu uniquement dans les « phagocytes » qui englobent les microbes et les détruisent ; quant au sérum sanguin, il ne contient pas d'alexine à l'état libre et il est complètement dépourvu d'action bactéricide; l'apparition de l'alexine (cytase) dans le sérum sanguin est un phénomène *post mortem*, en rapport avec la mort et la destruction des leucocytes.

Malgré leur différence d'opinion sur la nature de l'immunité, Buchner et Metchnikoff admettent que la substance bactéricide des sérums sanguins (alexine, cytase) a pour origine les leucocytes et notamment les polynucléaires; l'un et l'autre, avec leurs élèves, ont donné une série d'expériences à l'appui de cette opinion. *Buchner* [1], le premier, obtint de la façon suivante des extraits leucocytaires ayant une action bactéricide. Il inoculait aux lapins et aux cobayes, dans la cavité pleurale droite, une émulsion d'aleurone, et, 24 heures après, il en retirait un extrait riche en leucocytes. Pour supprimer l'action phagocytaire des leucocytes, Buchner soumettait les extraits à des

1. Buchner, *Archiv. f. Hyg.*, Bd. II.

congélations et à des dégèlements successifs, et les plaçait ensuite, pour une durée allant de quelques heures à 24 heures, dans l'étuve à 37°, afin d'extraire plus facilement les alexines des leucocytes. Les extraits obtenus avaient une action bactéricide plus puissante que celle des sérums sanguins correspondants.

Hahn[1] confirma les données de Buchner par rapport au *staphylococcus aureus* et au b. typhique. Mais, sur le vibrion du choléra asiatique, ses extraits agissaient bien plus faiblement que le sérum sanguin, et souvent ils étaient tout à fait dépourvus d'action bactéricide. Ce phénomène bizarre, plus tard vérifié par Schattenfroh[2], a été expliqué par Hahn de la façon suivante : les parties solubles d'aleurone passent dans les extraits, améliorent les conditions de nutrition des vibrions cholériques et augmentent ainsi la résistance de ces microbes à l'action nocive de l'alexine.

Denys[3] obtint un exsudat riche en leucocytes, en injectant des cultures de staphylocoques tués dans la cavité pleurale des lapins. Cet exsudat, débarrassé des leucocytes au moyen de la centrifugation, tuait les staphylocoques plus énergiquement que le sérum sanguin correspondant, et cela d'autant mieux qu'il était pris plus tard sur l'animal, dans les limites de 24 heures.

En 1897, *Schattenfroh*[2] publia un travail dans lequel il avait étudié avec soin les propriétés bactéricides des extraits leucocytaires des cobayes et des lapins, préparés selon la méthode de Buchner. C'est lui, le premier, qui, pour la préparation des extraits, lava les leucocytes à l'eau physiologique de sel marin. Il lui sembla que les leucocytes du cobaye supportent mal le lavage. Peut-être à ce fait faut-il rattacher un phénomène remarqué d'abord par Schattenfroh et confirmé par moi, à savoir que les extraits leucocytaires des cobayes agissent faiblement sur le b. typhique et le v. cholérique, ce qui les distingue de l'extrait leucocytaire des lapins. Schattenfroh a aussi remarqué un autre phénomène caractéristique, que j'ai vérifié par mes expériences (voir plus bas) : c'est la stabilité relativement plus grande, par rapport à une température élevée, des extraits leucocytaires préparés au moyen de la solution physiologique de sel marin.

1. Hahn, *Arch. f. Hyg.*, Bd. XXV.
2. Schattenfroh, *Arch. f. Hyg.*, Bd. XXXI.
3. Denys, *La cellule*, Bd. IX-XII.

Alors les extraits supportent, d'après Schattenfroh, sans aucun dommage pour leur activité, une chaleur de 60° C. pendant 30 minutes, et ne deviennent inactifs qu'à la température de 80°-85° C.; tandis que les extraits, préparés selon la méthode de Buchner, avec leur propre milieu albuminoïde, deviennent facilement inactifs à la température de 55° C.

Malgré une telle différence entre le sérum sanguin et l'extrait, Schattenfroh affirme qu'il existe dans l'un et l'autre le même principe bactéricide, identique aux alexines de Buchner.

En 1901, *Gengou*[1], du laboratoire de Metchnikoff, étudia de nouveau les propriétés des extraits leucocytaires. Pour obtenir des leucocytes, il injecta dans la cavité pleurale des lapins une solution alcaline de glutéo-caséine (dont j'indique plus bas le mode de préparation). Les leucocytes obtenus de cette façon étaient lavés deux fois à l'eau physiologique, puis, après addition de bouillon jusqu'au volume primitif de l'exsudat, ils étaient, selon la méthode de Buchner, plusieurs fois congelés et dégelés, et étaient placés ensuite pour 24 heures à l'étuve à 37°. Gengou démontra que ces extraits tuaient le v. du choléra, le b. typhique, le coli-bacille et le *bacillus anthracis*.

Les travaux des auteurs cités plus haut ont donc établi que les extraits leucocytaires possèdent une action bactéricide. Tous ces auteurs admettent que dans les sérums sanguins et les extraits leucocytaires il existe le même principe bactéricide, appelé alexine par Buchner, cytase par Metchnikoff. Cependant cette donnée a été récemment attaquée par *Lambotte et Stiennon*[2] et par *Petterson*[3], qui dénient complètement aux extraits leucocytaires une action bactéricide. Lambotte et Stiennon obtiennent des leucocytes en injectant aux animaux, dans les cavités séreuses, différentes substances propres à attirer les leucocytes, telles que la solution alcaline de glutéo-caséine, le bouillon et l'eau physiologique. L'exsudat, pris dans la cavité séreuse 24 heures après l'injection, contient 20 à 25 0/0 de polynucléaires, et au bout de 48 heures, 75 à 78 0/0. Le reste est constitué par de grands mononucléaires. On sépare les éléments figurés au moyen de la centrifugation et d'un double lavage à l'eau physiologique. On prépare ensuite les extraits par

1. Gengou, *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, p. 68.
2. Lambotte et Stiennon. *Centralbl. f. Bacter.* u. v. w., Bd. XL.
3. Pettersson, *ibidem*.

la méthode de Buchner, en ne prenant que les leucocytes qui ont complètement conservé leurs propriétés vitales, ce dont les auteurs s'assurent par l'énergique activité phagocytaire des leucocytes. Lambotte et Stiennon ont vérifié que la centrifugation pendant 10 minutes à 2,500 tours à la minute, avec rechange consécutif du liquide, n'affaiblit pas l'activité phagocytaire des leucocytes. La centrifugation répétée, même en renouvelant chaque fois le liquide, ne produit sur les leucocytes qu'un engourdissement temporaire : il suffit d'un repos d'une demi-heure pour que, dans les conditions favorables, les propriétés vitales des leucocytes soient restaurées (voir p. 227). A ce point de vue les auteurs sont d'accord avec *Sawtchenko* [1], lequel a également observé que la centrifugation ne détruit pas les leucocytes. En outre, Lambotte et Stiennon ont démontré que des oscillations assez étendues de température ne produisent qu'un engourdissement temporaire sur les leucocytes, sans détruire leurs fonctions vitales essentielles. C'est ainsi que la centrifugation à 0°, avec renouvellement du liquide, n'a eu d'autre effet que de nécessiter un repos prolongé pour rétablir les fonctions vitales des leucocytes. Après un repos d'une heure le nombre des leucocytes ayant repris leur pouvoir phagocytaire a été de 60 à 70 0/0. Bien plus, les leucocytes ayant subi la centrifugation et le lavage sont restés actifs, même après un séjour de 7 à 8 heures dans l'étuve à 37°. Les leucocytes, après être restés 6 heures à la température de la chambre, ont encore été capables de phagocyter le *B. anthracis*. Ces résultats prouvent, d'après Lambotte et Stiennon, que les cellules du sang ne sont pas des éléments instables se modifiant facilement au sortir de l'organisme. En se basant sur leurs expériences, ces deux auteurs arrivent à des conclusions en désaccord complet avec celles de leurs prédécesseurs, à savoir : 1° les extraits des leucocytes, débarrassés de leur sérum par lavage, n'ont pas d'action bactéricide, ce qui les distingue du sérum sanguin et du sérum obtenu avec l'exsudat débarrassé des leucocytes; 2° ils ne possèdent pas non plus de propriétés de compléments à l'égard des ambocepteurs bactéricides et hémolytiques.

Dans le même volume du *Centralbl. f. Bact.* u. s. w. (Bd XL) se trouve le travail de A. Pettersson qui, à peu près de la

1. *Ann. Inst. Pasteur*, 1902.

même façon, conclut que les leucocytes des cobayes ne contiennent pas de substances bactéricides actives vis-à-vis des bacilles typhiques, et qu'apparemment ils sont aussi dépourvus de la faculté de secréter des compléments (p. 547).

Les travaux de Lambotte et Stiennon et ceux de Pettersson apportent donc une grande dissonnance dans la question de l'origine des alexines. C'est ce qui m'a décidé à mon tour, sur la proposition du professeur Metchnikoff, à m'occuper de cette question si importante pour l'étude de l'immunité. Je me suis efforcé de suivre la même méthode que mes prédécesseurs, afin de faire ressortir autant que possible les causes qui ont conduit les auteurs à des résultats différents.

RECHERCHES PERSONNELLES

Pour obtenir un exsudat riche en leucocytes, j'injecte dans les cavités séreuses des animaux soit du Mellins food, soit de la glutéo-caséine. Je prépare celle-ci suivant les indications de Gengou, c'est-à-dire que, par 10 c. c. de solution de bicarbonate de soude à 0, 5 0/0, j'ajoute 1 gramme de glutéo-caséine : je chauffe ce mélange au bain-marie à 100° pendant une demi-heure, puis je le transporte dans un autre bain-marie pour être chauffé pendant 2 à 3 heures à une température de 55 à 58°. Le mélange est ensuite stérilisé à l'autoclave (à 100°) pendant 15 minutes, 2 jours de suite. On injecte à des cobayes 5 c. c. de ce mélange, dans la cavité abdominale, une première fois à 5 heures du soir et, le lendemain, à 9 heures du matin. Vers 4 ou 5 heures du soir, c'est-à-dire 7 à 8 heures après la seconde injection, l'animal est saigné. Après l'ouverture de la cavité abdominale, l'exsudat est plusieurs fois lavé à l'eau physiologique et est soumis le plus rapidement possible à la centrifugation pour séparer les leucocytes. Bien que pour les lavages des leucocytes je me sois servi de grandes quantités d'eau physiologique (40 à 50 c. c.) et que j'aie procédé avec la plus grande rapidité possible, je n'ai que rarement réussi à obtenir des leucocytes non agglutinés, coagulés, libres de fibrine. Après avoir décanté le liquide des leucocytes déposés, je verse une nouvelle quantité d'eau physiologique dans laquelle je mélange le dépôt aussi uniformément que possible en agi-

tant doucement le tout avec une baguette de verre stérilisée. Le tube est ensuite de nouveau soumis à la centrifugation pour séparer les leucocytes, on décante le liquide, et les leucocytes sont encore une fois lavés à l'eau physiologique. Quand l'eau du lavage a été décantée pour la seconde fois, le dépôt, composé de la plus grande partie des leucocytes, de parcelles de glutéo-caséine et de filaments de fibrine, est additionné de 2 c. c. 1/2 à 3 c. c. d'eau physiologique. Aux leucocytes obtenus d'un seul lapin j'ajoute 5 à 6 c. c. d'eau physiologique. Primitivement j'injectais dans la cavité péritonéale 10 c. c. de la solution alcaline de glutéo-caséine pour obtenir l'exsudat. Mais je me suis vite convaincu que le péritoine des lapins possède de grandes propriétés de résorption, de sorte que je ne réussissais à obtenir que très peu d'exsudat. C'est pourquoi je me mis à pratiquer chez le lapin des injections intra-pleurales. Je me suis aussi aperçu que la glutéo-caséine n'est pas un moyen assez sûr pour l'obtention de l'exsudat. Le bouillon donne également des résultats incertains. Je me suis alors adressé à des préparations qui n'avaient pas encore été expérimentées dans ce but, et bientôt j'en trouvai une qui me donna d'excellents résultats: c'est précisément le Mellins food (aliment Mellin pour enfants et convalescents). Je procède de la façon suivante :

Dans un tube contenant 8 à 10 c. c. de bouillon à réaction nettement alcaline, j'ajoute 1 gramme de Mellins food. La farine est diluée avec soin dans le bouillon, de manière à former une émulsion, puis le tube est mis au bain-marie à 100°, pendant qu'on agite constamment le contenu avec une baguette de verre. Quand à l'agitation il n'apparaît plus de grumeaux durs à la surface du liquide, c'est-à-dire au bout de 10 à 15 minutes, le mélange est stérilisé pendant 15 minutes à la température de 100°, et la stérilisation est répétée le lendemain. En déposant, le mélange se sépare en deux couches : en haut le liquide brun sombre et en bas des flocons de même couleur; en agitant, on obtient facilement une émulsion homogène qui passe aisément dans l'aiguille de la seringue. J'injecte 8 à 10 grammes de cette émulsion dans la cavité péritonéale des cobayes et autant dans la cavité pleurale des lapins. Il n'est pas nécessaire de répéter l'injection. Les animaux sont sacrifiés 16 à 24 heures

après, au moyen de la saignée de la carotide. L'exsudat obtenu est traité comme il a été dit plus haut. On recueille l'exsudat directement dans la cavité pleurale avec une pipette, sans ajouter d'eau physiologique. Dans cet exsudat la fibrine se détache bien plus lentement que dans celui qui est retiré de la cavité abdominale au moyen de lavage à l'eau physiologique. C'est pourquoi on réussit plus facilement à faire déposer les leucocytes sans qu'ils soient agglutinés, et l'émulsion leucocytaire est ainsi plus homogène. Une fois les leucocytes obtenus, d'une façon ou d'une autre, et lorsqu'ils ont été lavés deux fois à l'eau physiologique, je prépare des extraits selon la méthode de Buchner, en tuant les leucocytes par la congélation et la dégélation trois fois répétées, et en les plaçant ensuite dans l'étuve à la température de 37°, pour un temps variant de 2 heures 1/2 à 24 heures. L'extrait, une fois débarrassé des particules solides au moyen de la centrifugation, sert alors aux expériences. Il se présente comme un liquide jaunâtre, opalescent, légèrement sanguinolent, de consistance de mucus, s'étirant en filaments. Son état stérile a toujours été soigneusement vérifié par des ensemencements sur bouillon et sur gélose. Inutile d'ajouter que pendant les expériences on a pratiqué l'asepsie la plus rigoureuse et qu'on a vérifié à chaque fois la propreté des matériaux en expérience et la pureté des cultures.

EXPÉRIENCES BACTÉRICIDES

Au moyen d'une pipette de précision de 1 c. c. avec des divisions de 1/100 c. c., on verse dans une série de tubes à essai des quantités données d'extrait ou de sérum, par exemple 1 c. c. — 0 c. c. 5 — 0 c. c. 25, etc., et le volume (1 c. c.) est complété avec l'eau physiologique. Ensuite on ajoute dans chaque tube 3 gouttes de bouillon et 1 goutte d'émulsion typhique, laquelle a été préparée de la façon suivante : On prend d'une culture sur gélose de 24 heures le contenu d'une anse de platine (dans toutes les expériences j'ai fait usage du seul et même fil de platine), et on en fait une fine émulsion dans 10 c. c. d'eau physiologique ; de ce mélange on prend 1 c. c. pour ajouter à 9 c. c. d'eau physiologique. Donc 1 c. c. de ce dernier mélange contient 1/100 du contenu de l'anse en

platine de culture typhique. J'en mets alors une goutte dans chaque tube, au moyen de pipettes également calibrées. Avec 1 c. c. on obtient 28 à 30 gouttes, ce qui fait que la goutte versée dans le tube à essai représente 1/2800 à 1/3000 de l'anse en platine de culture typhique. Chaque expérience est soumise aux contrôles suivants :

1° Tube contenant 1 c. c. d'eau physiologique, 3 gouttes de bouillon et 1 goutte de culture; 2° Tube contenant tous les éléments ayant servi à l'expérience, sauf la culture typhique. Le premier tube sert à contrôler par comparaison la quantité de culture en expérience; le second à vérifier la stérilité des matériaux. A l'exemple du professeur Neisser, nous ne nous sommes pas astreints à faire le compte exact des colonies développées sur les boîtes de Pétri et nous nous sommes contentés des désignations suivantes : O = boîtes stériles, *dizaines* = 10 à 100 colonies dans la boîte, *centaines* = 100 à 1,000; *milliers* = 1,000 à 10,000, et ∞ = nombre de colonies incomptable en dépassant 10,000.

Après avoir mélangé les extraits ou le sérum avec la culture de la façon indiquée plus haut, on place les tubes à l'étuve à la température de 37°. Au bout d'un délai variant de 4 à 24 heures (et, à chaque expérience, on a pris soin de marquer l'époque), on en fait des ensemencements sur boîte de gélose avec le fil de la platine à anse triple.

D'autre part, pour étudier l'influence des températures élevées sur l'action bactéricide des extraits, je mets dans le tube une quantité déterminée d'extrait (par exemple 1 c. c. ou 0 c. c. 5), j'ajoute de l'eau physiologique pour faire 1 c. c. et je chauffe le mélange pendant 30 minutes au bain-marie à la température voulue. Après refroidissement j'ajoute 3 gouttes de bouillon et 1 goutte de culture, j'agite soigneusement le tube et le place à l'étuve à 37°. Puis je continue l'expérience comme je viens de le décrire plus haut.

Expériences sur les cobayes. — Pour préparer l'exsudat je me suis servi, dans 4 expériences, de glutéo-caséine et, dans 5 autres expériences, de Mellins food.

Dans le premier groupe d'expériences j'ai obtenu deux fois des extraits tout à fait inactifs.

Le second groupe d'expériences me fournit une fois un

extrait assez actif et quatre fois un extrait inactif. Dans les 9 expériences les extraits avaient été préparés d'après la même méthode, telle qu'elle est décrite plus haut, et cependant les extraits possédaient des qualités bactéricides fort différentes, comme on le voit avec évidence sur le tableau donné plus loin. Peut-être ce fait dépend-il de ce que les leucocytes des cobayes supportent mal le lavage, ainsi que l'a constaté Schattenfroh (*l. c.*, p. 14). Mais, en général, nos résultats concordent avec ceux de Hahn et de Schattenfroh, qui n'ont obtenu que des extraits peu actifs avec les leucocytes des cobayes. Les extraits leucocytaires des cobayes paraissent ne pas contenir de compléments pour les ambocepteurs typhiques; leur action bactéricide, quand elle existe, présente la même stabilité aux températures élevées que les extraits leucocytaires des lapins.

ACTION BACTÉRICIDE AU MOYEN DES EXTRAITS LEUCOCYTAIRES DES COBAYES

I. *Leucocytes obtenus au moyen de la glutéo-caséine.*

	QUANTITÉ d'extrait.	NOMBRE DES COLONIES AU BOUT DE 4 HEURES	
		Avec extrait.	Sans extrait (1 c. c. d'eau physiologique.)
1re expérience.	1 c. c.	∞	∞
2e —	1 c. c.	Milliers.	∞
3e —	1 c. c.	Milliers.	∞
4e —	1 c. c.	∞	∞

II. *Leucocytes obtenus au moyen de Mellins food.*

	Quantité d'extrait.	Quantité d'eau physiologique.	NOMBRE DES COLONIES AU BOUT DE 4 HEURES	
			Avec extrait.	Sans extrait (1 c. c. d'eau physiologique)
5e expérience.	0 c.c. 50	0 c.c. 50	0	∞
5e —	0 c.c. 25	0 c.c. 75	Milliers.	∞
6e —	1 c.c.	0	∞	∞
7e —	1 c.c.	0	∞	∞
8e —	1 c.c.	0	∞	∞
9e —	1 c.c.	0	∞	∞

Expériences sur les lapins. *Expérience* 1. — Double injection de glutéo-caséine dans la cavité péritonéale (à 5 heures du soir et le lendemain à 9 heures du matin). Le lapin est saigné 6 h. 1/2 après la dernière injection. Pendant le lavage, des leucocytes se sont agglutinés.

L'extrait a été préparé selon la méthode de Buchner.

	BACILLES TYPHIQUES NOMBRE DES COLONIES	
	Au bout de 4 h.	Au bout de 24 h.
1. 1 c. c. d'extrait + 0,3 d'eau physiologique	0	0
2. 0,8 c. c. de solution salée + 0,50 sérum frais de lapin	0	0

Expérience 2. — Extrait préparé comme dans l'expérience 1.

	BACILLES TYPHIQUES NOMBRE DES COLONIES	
	Au bout de 4 h.	Au bout de 24 h.
1. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 eau physiologique	Unités.	0
2. 0,50 c. c. extrait + 0,50 eau physiologique chauffée pendant 30 minutes à 60° C.	Unités.	0
3. 1 c. c. d'eau physiologique	∞	∞

Résultat : l'action bactéricide de l'extrait n'est pas détruite par le chauffage à 60° pendant 30 minutes.

Expérience 3. — Extrait préparé comme dans les expériences précédentes. La première partie de l'extrait a été prise à l'étuve au bout de 2 h. 1/2 et conservée jusqu'au lendemain dans la glace; la seconde partie a été prise au bout de 16 heures.

	BACILLES TYPHIQUES NOMBRE DES COLONIES	
	Au bout de 4 h.	Au bout de 22 h.
1. 1 c. c. de la 1re partie de l'extrait......	14	0
2. — chauffé pendant 30 minutes à 62°..............................	140	0
3. 1 c. c. de la 2e partie d'extrait........	Unités.	0
4. — chauffé pendant 30 minutes à 62° C..............................	0	0
5. 1 c. c. de sérum frais de lapin.......	0	0
6. — chaufté pendant 30 minutes à 56°..............................	∞	∞
7. 1 c. c. d'eau physiologique...........	∞	∞

Deuxième extrait. — Au dépôt resté dans le tube après avoir enlevé la 2e partie de l'extrait (voir plus haut), on ajoute 1 c. c. 1/2 d'eau physiologique, et le mélange est placé à l'étuve à 37°. Au bout de 48 heures le liquide est séparé des parcelles solides par la centrifugation et il est recueilli avec précaution.

	NOMBRE DES COLONIES	
	Au bout de 4 heures.	Au bout de 24 heures.
1. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiologique..............................	150	0
2. 1 c. c. d'eau physiologique...........	∞	∞

Résultat : Après 16 heures de séjour à l'étuve, l'extrait est tout aussi actif qu'après 2 h. 1/2. Si, au dépôt resté après la prise du premier extrait, on ajoute une nouvelle quantité d'eau physiologique et qu'on mette le mélange à l'étuve pendant 48 heures, on obtient encore un extrait actif.

Expérience 4. — Extrait préparé comme dans les expériences précédentes. Le sérum antityphique du Dr Besredka, desséché, est dissout dans la proportion de 1 pour 10 dans de l'eau stérilisée. Les solutions ultérieures sont préparées avec l'eau physiologique.

		CULTURE TYPHIQUE Nombre des colonies.	
		Au bout de 4 heures.	Au bout de 24 heures.
1. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiologique		centaines.	∞
2. 0,25 c. c. d'extrait + 0,75 c. c. d'eau physiologique		milliers.	∞
3. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000 — 1 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	∞	∞
4. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 1 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	unités.	centaines.
5. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 0,30 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	0	0
6. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	0	0
7. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100.000 — 0,30 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	dizaines.	0
8. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 0,1 c. c.	+ 0,50 c. c. de sérum frais de lapin.	milliers.	∞
9. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 0,15 c. c.	+0,50cc extrait.	dizaines.	∞
10. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1 c. c.	+0,50cc extrait.	dizaines.	∞
11. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 0,15 c. c.	+0,25cc extrait.	milliers.	∞
12. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1 c. c.	+0,25cc extrait.	nombreux milliers.	∞
13. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000 — 1 c. c.		∞	∞
14. Sérum frais de lapin 0,05 c. c. dans 1 c. c. d'eau physiologique		∞	∞
15. Eau physiologique 1 c. c		∞	∞

Résultat : 0,50 c. c. et 0,25 c. c. d'extrait ont une action bactéricide nette, mais insuffisante pour détruire tous les bacilles typhiques.

Les quantités d'extrait ne contiennent pas de compléments pour les ambocepteurs typhiques.

Expérience 5. — L'extrait, légèrement sanguinolent, est préparé comme dans les expériences précédentes.

		Nombre des colonies au bout de 4 h.
1. 0,50 c.c. d'extrait + 0,50 d'eau physiologique		0
2. 0,25 c.c. d'extrait + 0,75 d'eau physiologique		0
3. 0,15 c.c. d'extrait + 0,85 d'eau physiologique		Unités.
4. 0 c.c. 10 d'extrait + 0,80 d'eau physiologique		Milliers.
5. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000 — 1 c.c.	+ 0 c.c. 05 de sérum frais de lapin.	Milliers.
6. — — — 1 p. 10,000 — 1 c.c.		0
7. — — — 1 p. 100,000 — 1 c.c.		0
8. — — — 1 p. 100,000 — 0 c.c. 30		0
9. — — — 1 p. 100,000 — 0 c.c. 10		Centaines.
10. — — — 1 p. 1,000 — 1 c.c.	+ 0,10 c. c. d'extrait.	∞
11. — — — 1 p. 10,000 — 1 c.c.		∞
12. — — — 1 p. 100,000 — 1 c.c.		Milliers.
13. — — — 1 p. 100,000 — 0 c.c. 10		Centaines.
14. — — — 1. p. 1,000 — 1 c.c.	+ 0,15 c. c. d'extrait.	∞
15. — — — 1. p. 10,000 — 1 c.c.		∞
16. — — — 1. p. 100,000 — 1 c.c.		Unités.
17. — — — 1 p. 100,000 — 0 c.c. 10		Unités.
18. — — — 1 p. 1,000 — 1 c.c.		∞
19. Sérum frais de lapin 0 c.c. 85 dans 1 c.c. d'eau physiologique.		Centaines.
20. Eau physiologique 1 c. c		∞
21. 0,50 c.c. d'extrait + 0,50 c.c. d'eau physiologique chauffée à 62° pendant 30 minutes		0
22. 0,50 c.c. d'extrait + 0,50 c.c, d'eau physiologique chanffée à 72° pendant 30 minutes		0
23. 0.50 c.c. d'extrait + 0,50 c.c. d'eau physiologique chauffée à 100° pendant 15 minutes		∞

Résultats : les quantités d'extrait, même celles (0,10 et 0,15 c. c.) qui sont les plus bactéricides, ne contiennent pas de compléments à l'égard des ambocepteurs typhiques, ce qui distingue nettement l'extrait du sérum sanguin correspondant. Néanmoins, on obtient les déviations des compléments (Neisser

et Wechsberg). Nous n'avons d'ailleurs observé ce phénomène que cette seule fois. Dans les autres expériences, il est beaucoup moins prononcé ou même fait complètement défaut. Ne pourrait-on pas l'expliquer par la présence d'une certaine quantité de sérum, par suite d'un lavage insuffisant ?

L'action bactéricide de cet extrait s'est conservée malgré un chauffage à une température de 62° et de 72°; elle a été détruite par l'ébullition.

Extraction successive des substances bactéricides des leucocytes par lavages successifs avec l'eau physiologique. — Après avoir recueilli, au moyen de la centrifugation, le premier extrait qui a servi pour les expériences décrites, j'ajoute aux leucocytes restés au fond du tube 3 c. c. d'eau physiologique, je mélange soigneusement, et je laisse à la température de 37° pendant 24 heures. Les parcelles solides sont ensuite séparées par la centrifugation, et le liquide est recueilli avec précaution au moyen de la pipette. J'obtiens de cette façon le *deuxième extrait*. Au dépôt, j'ajoute encore 3 c. c. d'eau physiologique et je place à l'étuve à 37° pour 48 heures, après quoi on sépare par la centrifugation et on recueille à la pipette le *troisième extrait*. Après cette opération, le tube ainsi que le reste des leucocytes est bouché avec un tampon d'ouate et laissé au laboratoire, pendant 2 jours, à la lumière diffuse; ensuite on y verse 1 c. c. 1/2 de solution salée, on place le mélange à l'étuve pendant 48 heures, et, après la centrifugation, on obtient le *quatrième extrait*. Au dernier dépôt on ajoute encore 1 c. c. d'eau physiologique, le mélange est mis à l'étuve pour 24 heures et on recueille par le procédé habituel le *cinquième extrait*. Avec ces 4 derniers extraits, on a fait l'expérience suivante : On met dans des tubes 0. c. c. 50 de chacun des extraits avec 0 c. c. 50 d'eau physiologique, 3 gouttes de bouillon et 1 goutte de culture typhique ; les tubes sont alors placés à l'étuve pour 4 heures. Les ensemencements faits sur boîte de gélose sont restés stériles. Il s'ensuit donc que ces 4 extraits ont une action bactéricide. Ils ont conservé leur action bactéricide après avoir été chauffés pendant 30 minutes à la température de 62°, et l'ont perdue par un chauffage à la température de 84°. En même temps, ils ne contiennent pas du tout de compléments pour les ambocepteurs typhiques, comme cela apparaît sur le tableau ci-dessous ; à l'inverse du premier

extrait, ils n'ont pas manifesté de phénomènes de déviation des compléments,

		Nombre de Colonies Au bout de 4 h.
1. Sérum antityph. en solution à 1 : 1,000 — 1 c.c.	+ 0,1 c.c. du 2e extrait.	∞
2. — — — à 1 p. 10,000 — 1 c.c.		∞
3. — — — à 1 p. 100,000 — 1 c.c.		∞
4. — — — à 1 p. 100,000 — 0,1 c.c.		∞
5. — — — à 1 p. 10,000 — 1,0 c.c.	+ 0 c.c. du 3e extrait.	∞
6. — — — à 1 p. 100,000 — 1,0 c.c.		∞
7. — — — à 1 p. 100,000 — 1,0 c.c.		∞

Expérience 6. — Nous avons plusieurs fois observé que l'addition de l'extrait leucocytaire aux sérums sanguins diminue l'action bactéricide de ces derniers. Dans l'expérience présente les conditions du phénomène ont été plus exactement déterminées.

Dans cette expérience, ainsi que dans toutes celles qui suivent, j'ai, pour l'obtention des leucocytes, fait usage des injections de Mellins food dans la cavité pleurale des lapins. L'extrait était préparé comme d'habitude. Comme on le voit d'après le tableau ci-dessous, la dose bactéricide minimale était égale à 0,25 c. c., aussi bien d'extrait que de sérum. Mais un mélange composé de parties égales d'extrait et de sérum ne tue pas tous les microbes, même à la dose de 0,50 c. c.; seulement il en diminue considérablement le nombre. Pour obtenir un effet bactéricide complet, il a fallu employer 0,72 c. c. du mélange. Il semble donc qu'un des éléments du mélange — extrait ou sérum — ait perdu son action bactéricide. Certes, on peut aussi supposer que les deux éléments ont été affaiblis au même degré ou à des degrés différents. C'est ce que nous avons cherché à élucider au moyen des expériences suivantes :

Le second phénomène caractéristique de cette expérience, c'est que la température à laquelle le mélange de sérum et

d'extrait perd ses effets est beaucoup plus basse que celle qui est nécessaire pour rendre inactif l'extrait seul, et correspond en général à la température qui rend inactifs les sérums sanguins frais.

		Nombre des colonies	
		Au bout de 4 heures.	Au bout de 24 heures.
1. 0,5 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiologique........		0	0
2. 0,2 c. c, — + 0,75 c. c. —		0	∞
3. 0,1 c. c. — + 0,9 c. c. —		centaines	∞
4. 0,5 c. c. — + 0,50 c. c. d'eau physiologique.	Chauffé pendant 30 min. à 62°-63°.	0	0
5. 0,25 c. c. — + 0,75 c. c. —		0	centaines
6. 0,1 c. c. — + 0,90 c. c. —		milliers	∞
7. 0,5 c. c. — + 0,50 c. c. d'eau physiologique.	Chauffé pendant 30 min. à 72°-74°.	milliers	∞
8. 0,25 c. c. — + 0,75 c. c. —		milliers	∞
9. 0,1 c. c. — + 0,90 c. c. —		∞	∞
10. 0,5 c. c. de sérum frais de lapin + 0,50 c. c. d'eau phys.		0	
11. 0,25 c. c. — + 0,75 c. c. —		0	
12. 0,10 c. c. — + 0,90 c. c. —		centaines	
13. Mélange à parties égales d'extrait et de sérum frais de lapin 0,72 c. c. + 0,28 c. c. d'eau physiologique..		dizaines	0
14. Mélange à parties égales d'extrait et de sérum frais de lapin 0,50 c. c. + 0,50 c. c. d'eau physiologique.		centaines	centaines
15. Mélange à parties égales d'extrait et de sérum frais de lapin 0,25 c. c. + 0,75 c. c. d'eau physiologique.		milliers	∞
16. Mélange à parties égales d'extrait et de sérum frais de lapin 0,10 c. c. + 0,90 c. c. d eau physiologique..		∞	∞
17. Le même mélange chauffé 30 minutes à 57°, 0,90 c. c. + 0,10 c. c. d'eau physiologique..................		milliers	∞
18. Le même mélange chauffé 30 minutes à 57°, 0,50 c. c. + 0,50 c. c. d'eau physiologique..................		milliers	∞
19. Le même mélange chauffé 30 minutes à 57°, 0,25 c. c. + 0,75 c. c. d'eau physiologique..................		∞	∞
20. Le même mélange chauffé 30 minutes à 57°, 0,10 c. c. + 0,90 c. c. d'eau physiologique..................		∞	∞
21. Mélange à parties égales de sérum frais de lapin et d'eau physiologique chauffé à 57° pendant 30 min. 1,0 c. c.		∞	∞
22. Eau physiologique 1 c. c........................		∞	∞

Expérience 7. — Les leucocytes sont obtenus, comme dans l'expérience précédente, à l'aide du Mellins food. L'extrait est préparé comme d'habitude.

CULTURE TYPHIQUE	NOMBRE DES COLONIES Au bout de 4 h.
1. 1 c. c. extrait + 0 c. c. 25 eau physiol.................	0
2. 0 c. c. 50 extrait + 0 c. c. 75 eau physiol................	0
3. 1 c. c. extrait + 0 c. c. 25 de sérum inactivé de lapin...	milliers
4. 1 c. c. sérum inactivé de lapin + 0 c. c. 25 eau physiol.	nombreux milliers
5. 1 c. c. 25 eau physiologique..............................	∞
6. 0 c. c. 50 de sérum frais de lapin + 0 c. c. 75 d'eau physiol.	0
7. 0 c. c. 25 — — + 1 c. c. —	0
8. 0 c. c. 10 — — + 1 c. c. 15 —	dizaines

0 c. c. 50 d'extrait possède une action bactéricide complète, tandis qu'une dose double, c'est-à-dire 1 c. c. d'extrait, agit beaucoup plus faiblement en ne faisant que diminuer le nombre des microbes, lorsqu'on y a ajouté 0 c. c. 25 de sérum inactivé du lapin.

Expérience 8. — Il a été injecté, dans chacune des deux cavités pleurales d'un lapin, 8 c. c. d'émulsion de Mellins food.

On a recueilli au moyen de la pipette, dans la plèvre droite, 14 c. c. d'exsudat riche en leucocytes, dont 90 0/0 étaient des polynucléaires. On a recueilli autant d'exsudat, légèrement sanguinolent, dans la plèvre gauche. Pour la préparation de l'extrait, on n'a pris que les leucocytes provenant de la plèvre droite, c'est-à-dire ceux qui n'étaient pas mélangés de sang. On a ajouté à ces leucocytes 3 1/2 c. c. d'eau physiologique et, après avoir fait geler et dégeler le mélange à trois reprises, on l'a placé à l'étuve à 37° pour 2 h. 1/2. On a ensuite débarrassé le liquide des parcelles solides au moyen de la centrifugation et on l'a recueilli avec la pipette. On a obtenu ainsi *le premier extrait*. Au dépôt restant on a ajouté aussitôt 3 nouveaux c. c. d'eau physiol. et, après avoir agité le tube, on l'a placé à l'étuve à 37° durant 16 heures. Après quoi, le liquide a été débarrassé comme auparavant des parties solides par la centrifugation et on l'a recueilli à la pipette, ce qui a donné *le deuxième extrait*.

	Nombre des colonies au bout de 6 heures
1. 0,75 c. c. du 1er extrait + 0,50 c. c. d'eau physiologique	0
2. — — — de sérum inactivé du lapin	∞
3. — — — d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 minutes à 62°	0
4. 0,75 c. c. du 1er extrait + 0,50 d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 minutes à 72°	15
5. 1 c. c. du 2e extrait + 0,25 c. c. d'eau physiologique	2
6. — — — de sérum inactivé du lapin	∞
7. — — — d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 minutes à 62°	0
8. 1 c. c. du 2e extrait + 0,25 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 minutes à 72°	0
9. 1 c. c. d'exsudat débarrassé des leucocytes + 0,25 c. c. eau physiol.	Milliers.
10. 0,50 c. c. de sérum frais du lapin + 0,75 c. c. d'eau physiol	Unités.
11. 1 c. c. 25 d'eau physiologique	∞

Résultats : le 1er, aussi bien que le 2e extrait, possède une action bactéricide intense, qui est annulée par l'addition de sérum inactivé de lapin. L'action bactéricide de ces deux extraits persiste malgré le chauffage à 62° et 72° pendant 30 minutes. L'exsudat débarrassé des leucocytes (pas complètement) par la centrifugation, ne possède que des propriétés bactéricides insignifiantes.

Expérience 9. — On a injecté à 5 h. 1/2 du soir, dans chacune des cavités pleurales d'un lapin, 8 c. c. de Mellins food. Le lendemain, à 10 heures du matin, le lapin a été saigné, la cavité thoracique ouverte, et on a recueilli dans chaque cavité pleurale 14 c. c. d'exsudat riche en leucocytes, dont 90 0/0 de polynucléaires. Les leucocytes ont été centrifugés, lavés deux fois à l'eau physiologique, puis, ajoutant 5 c. c. d'eau physiologique, on a préparé l'extrait d'après la méthode de Buchner. Cette préparation a duré 2 h. 1/2 à la température de 37°.

On a préparé simultanément et de la même façon un extrait des leucocytes des deux cobayes.

	NOMBRE DES COLONIES	
	Au bout de 4 heures.	Au bout de 24 heures.
1. 0,75 c. c. d'extrait de lapin + 0,50 c. c. d'eau physiologique	0	0
2. 0,75 c. c. d'extrait de lapin + 0,50 c. c. de sérum inactivé de lapin	milliers.	∞
3. 0,75 c. c. d'extrait de lapin + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 min. à 62°.	0	milliers.
4. 0,75 c. c. d'extrait de lapin + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 min. à 72°.	0	∞
5. 0,75 c. c. d'extrait de cobaye + 0,50 c. c. d'eau physiologique	∞	∞
6. 0,75 c. c. d'extrait de cobaye + 0,50 c. c. de sérum inactivé de lapin	∞	∞
7. 0,75 c. c. d'extrait de cobaye + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 min. à 62°.	∞	∞
8. 0,75 c. c. d'extrait de cobaye + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé pendant 30 min. à 72°.	∞	∞
9. 0,50 c. c. de sérum frais de lapin + 0,75 c. c. d'eau physiologique	dizaines.	unités.
10. 0,50 c. c. de sérum frais de lapin + 0,75 c. c. de sérum inactivé de lapin	0	∞
11. 0,50 c. c. de sérum frais de cobaye + 0,75 c. c. d'eau physiologique	dizaines.	∞
12. 0,50 c. c. de sérum frais de cobaye + 0,75 c. c. de sérum inactivé de lapin	0	0
13. 1,25 c. c. d'exsudat pleural de lapin, débarrassé des leucocytes	∞	∞
14. 1,25 c. c. d'eau physiologique	∞	∞

Résultats : L'extrait leucocytaire du lapin est privé de son action bactéricide par l'addition de sérum inactivé de lapin. Mais si l'on ajoute ce sérum inactivé de lapin au sérum frais du lapin ou du cobaye, l'action bactéricide de ces sérums n'est pas affaiblie.

Expérience 10. — L'extrait est préparé comme d'habitude avec des leucocytes du lapin obtenus au moyen de Mellins food.

	NOMBRE DES COLONIES	
	Aû bout de 7 heuaes	Au bout de 30 heures.
1. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiol.	0	0
2. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé 30 minutes à 62°	dizaines.	dizaines.
3. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé 30 minutes à 72°	∞	∞
4. 0,50 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiol., le tout chauffé 30 minutes à 85°	∞	∞
5. 0,50 c. c. d'extrait + 0,20 c. c. de sérum inactivé de lapin	c ntaines.	∞
6. 0,50 c. c. d'extrait + 0,20 c. c. de sérum inactivé de cheval	centaines.	∞
7. 0,50 c. c. d'extrait + 0,20 c. c. de bouillon	0	0
8. 1 c. c. d'eau physiologique	∞	∞
9. 0,25 c. c. de sérum frais de lapin + 0,75 c. c. d'eau physiologique	0	0
10. 0,10 c. c. de sérum frais du lapin + 0,90 c. c. d'eau physiologique	dizaines.	∞

Cet extrait avait déjà perdu son action bactéricide à la température de 72°; donc il est un peu moins stable à la température élevée qu'on ne l'observe habituellement. Mais il faut remarquer que la dose d'extrait chauffée (0. c. c. 50) était très rapprochée de la dose minimale: peut-être un léger affaiblissement, ou simplement le ralentissement de la propriété bactéricide, a-t-il pu entraîner la perte de l'action elle-même. Et en effet, d'après le tableau ci-dessous, on voit que 0 c. c. 25 d'extrait ne fait diminuer que peu et temporairement le nombre des colonies dans le tube. Mais l'intérêt principal de cette expérience et de celle qui suit, c'est que le sérum inactivé de lapin ou bien de cheval, ajouté à l'extrait dans la quantité de 0 c. c. 20 seulement, diminue considérablement son action bactéricide. Le bouillon, ajouté dans la même quantité, ne produit pas cet effet. En outre, comme on le voit sur le tableau ci-dessous, l'extrait, même en quantité relativement considérable, ne contient pas de compléments pour les ambocepteurs typhiques, alors que le sérum frais, pris en quantité 5 fois moindre (0 c. c. 05), en contient.

Complément des ambocepteurs typhiques.		NOMBRE DES COLONIES Au bout de 9 h.	Au bout de 30 h.
1. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100 — 1,0 c. c.	+ 0,25 c. c. d'extrait	∞	∞
2. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000 — 1,0 c. c.		milliers	∞
3. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 1,0 c. c.		milliers	∞
4. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1,0 c. c.		milliers	∞
5. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000,000 — 1,0		milliers	∞
6. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100 — 1,0 c. c.	+ 0,1 c. c. d'extrait	∞	∞
7. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000 — 1,0		∞	∞
8. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 1,0		∞	∞
9. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1,0		∞	∞
10. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000,000 — 1,0		∞	∞
11. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100 — 1,0 c. c.	+ 0,05 c. c. de sérum frais de lapin.	∞	∞
12. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1.000 — 1,0 c. c.		centaines	∞
13. Sérum antityphique en solution à 1 p. 10,000 — 1,0 c. c.		centaines	∞
14. Sérum antityphique en solution à 1 p. 100,000 — 1,0 c. c.		0	0
15. Sérum antityphique en solution à 1 p. 1,000,000		centaines	∞
16. 0,25 c. c. d'extrait + 0,75 c. c. d'eau physiologique		milliers	∞
17. 0,10 c. c. d'extrait + 0,90 c. c. d'eau physiologique		∞	∞

La « déviation des compléments », remarquée dans le premier tube, peut s'expliquer facilement par l'effet neutralisant de la dose relativement grande (0 c. c. 05) de sérum de cheval antityphique.

Expérience 11. — Extrait âgé de 3 heures, des leucocytes du lapin (Mellins food).

	Nombre des colonies au bout de 4 h.
1. 0,50 c. c. de sérum frais du lapin + 0,50 c. c. d'eau physiol...	0
2. 0,25 — — + 0,75 — —	0
3. 0,10 — — + 0,90 — —	0
4. 0,65 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. d'eau physiol..................	0
5. 0,65 — + 0,50 c.c. de sérum inactivé du lapin.....	Nombreux milliers.
6. 0,65 — + 0,25 c. c. d'eau physiol. + 0,25 c. c. de sérum inactivé du lapin..................................	Mille environ.
7. 0,65 c. c. d'extrait + 0,50 c. c. de bouillon...................	0

Résultat : L'action bactéricide de l'extrait est annulé par l'addition de sérum inactivé de lapin, alors que l'addition de la même quantité de bouillon est sans influence.

OBSERVATIONS SUR LE PHÉMOMÈNE DE PFEIFFER.

Nous nous sommes servi de la culture sur gélose du choléra asiatique « Bombay », âgée de 24 heures, et du sérum anticholérique préparé à l'Institut Pasteur de Paris. L'extrait a été préparé par moi, comme d'habitude, avec les leucocytes du lapin. C'est ce même extrait qui a servi pour l'expérience 9.

1. 5 gouttes de vibrions cholériques sensibilisés + 1 goutte de sérum frais de cobaye. — Formation typique de sphères.

2. 5 gouttes de vibrions cholériques sensibilisés + 1 goutte de sérum frais de lapin. — Formation typique de sphères.

3. 5 gouttes de sérum frais de lapin + 1 goutte d'émulsion cholérique dans l'eau physiologique. — Formation typique de sphères.

4. 5 gouttes de sérum inactivé de lapin + 1 goutte d'émulsion cholérique. — La formation des sphères ne s'observe pas.

5. 5 gouttes d'eau physiologique + 1 goutte d'émulsion cholérique. — La formation des sphères ne s'observe pas.

6. 5 gouttes d'extrait leucocytaire du lapin + 1 goutte d'émulsion cholérique. — La formation des sphères est plus tardive et moins abondante.

7. 5 gouttes d'extrait leucocytaire du lapin chauffé pen-

dant 30 minutes à 62° + 1 goutte d'émulsion cholérique. — La formation des sphères est la même que celle observée dans l'expérience 6.

8. 5 gouttes d'extrait leucocytaire du lapin chauffé pendant 30 minutes à 72° + 1 goutte d'émulsion cholérique. — La formation des sphères est la même que celle qu'on a observée dans les tubes des expériences 6 et 7.

Les observations ont eu lieu à la température de la chambre pendant 3 heures. A la fin, on pouvait voir, d'après la description ci-dessus, des sphères typiques dans tous les tubes, sauf en 4 et 5, tubes de contrôle. Dans les tubes 6, 7 et 8 la transformation des vibrions cholériques en sphères n'a pas été aussi typique que dans les trois premiers tubes.

Nous avons pu, de cette façon, constater la transformation des vibrions cholériques en sphères sous l'influence de l'extrait leucocytaire du lapin. Il est vrai que le phénomène n'était pas aussi typique qu'avec des sérums normaux et frais. En outre, nous devons encore faire remarquer un fait intéressant, c'est que l'extrait chauffé à 62° et même à 72° n'a pas perdu la capacité de transformer les vibrions en sphères. Cette particularité le distingue franchement des alexines.

DÉDUCTIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

1. Les extraits leucocytaires du lapin, préparés selon la méthode de Buchner, avec l'eau physiologique, possèdent une action bactéricide sur les bacilles typhiques.

2. Les extraits leucocytaires du cobaye possèdent des propriétés bactéricides très faibles, ou même en sont tout à fait privés.

L'action bactéricide des extraits n'est pas détruite par le chauffage pendant 30 minutes à la température de 62° et de 72°, et elle l'est par un chauffage à la température de 80-85°. La température de 72° a une action inconstante, mais dans la plupart des cas elle n'est pas suffisante pour détruire l'action bactéricide de l'extrait.

3. Les extraits leucocytaires du lapin et du cobaye ne contiennent pas de compléments à l'égard des ambocepteurs typhiques.

4. Si l'on mélange l'extrait leucocytaire avec un sérum san-

guin normal frais, ce mélange devient inactif à la température de 56°.

5. L'addition à l'extrait d'un sérum normal chauffé prive l'extrait de son action bactéricide, effet qui ne se produit pas avec addition de bouillon, même à dose plus élevée. L'addition de ces mêmes sérums inactivés au sérum normal du lapin et du cobaye n'affaiblit pas l'action bactéricide de ces derniers.

6. Sous l'influence de l'extrait leucocytaire du lapin, les vibrions cholériques subissent la transformation en sphères (phénomène de Pfeiffer), quoique ce phénomène ne soit pas aussi nettement prononcé qu'avec les sérums normaux ou les sérums spécifiques.

Cette action de l'extrait n'est pas anéantie par le chauffage à 62° et 72° pendant 30 minutes.

Nous pouvons donc considérer comme démontré que des substances bactéricides peuvent être extraites des leucocytes du lapin d'après la méthode de Buchner. Mais les faits que nous avons obtenus, nous permettent-ils de conclure que les extraits contiennent les mêmes substances qui rendent bactéricides les sérums sanguins normaux? En d'autres termes, avons-nous réussi à prouver la présence des alexines dans les extraits leucocytaires? Une plus grande résistance à la température (thermostabilité) des substances bactéricides des extraits, l'absence de compléments à l'égard des ambocepteurs typhiques et l'anéantissement de l'action bactéricide par l'addition de sérums normaux chauffés, sont autant d'arguments contre l'identité des extraits avec les alexines des sérums. Involontairement une hypothèse se présente à notre esprit : c'est que les substances bactéricides des extraits leucocytaires sont analogues à ces substances thermostables, hémolytiques, que nous-même et *Morgenroth*[1] avons décrit dans les extraits de certains organes. Cette hypothèse n'est pas ruinée par le fait que l'action bactéricide des extraits leucocytaires se perd par le chauffage à une température supérieure à 72°; car nous avons démontré que l'action hémolytique des extraits organiques se ralentit considérablement après le chauffage. Nous avons expliqué cette particularité des extraits chauffés, en supposant que

1. Korschun et Morgenroth, *Berl. Klin. Wochenschrift*, 1902, n° 37.

la substance hémolytique, précipitée par le chauffage en même temps que l'albumine coagulée, ne passe que lentement dans la solution. En admettant la même explication pour les extraits leucocytaires, on comprend que la substance bactéricide, se libérant lentement du dépôt, ne puisse empêcher la multiplication des bactéries, bien que la substance bactéricide ne soit pas détruite.

Cependant la composition très complexe des albuminoïdes en présence nous oblige de nous abstenir de toute conclusion catégorique jusqu'à des recherches ultérieures.

Mais quand on démontrerait que les extraits leucocytaires, préparés avec l'eau physiologique et selon la méthode de Buchner, ne contiennent pas d'alexines, ce ne serait nullement une preuve contre l'origine leucocytaire des alexines des sérums sanguins. Le fait que les leucocytes vivants contiennent des alexines dans leur intérieur est solidement établi, principalement par les travaux de l'école de Metchnikoff. Par conséquent il se peut que les alexines aient été perdues à un temps quelconque de la préparation de nos extraits, ou bien qu'elles aient été neutralisées par des corps dégagés au moment de la destruction des leucocytes mêmes, qui, comme on le sait, contiennent en abondance des corps extrêmement différents.

A l'occasion de ce travail je tiens à exprimer à M. Metchnikoff mon profond respect, ainsi que ma reconnaissance sincère pour sa bienveillante attention. J'adresse également l'expression de ma vive gratitude au Dr Besredka pour l'aide qu'il a bien voulu me donner au cours de ce travail.

Sur les opsonines et les antiphagines dans l'infection pneumoccocique.

Par le Professeur N. TCHISTOVITCH et V. YOUREVITCH privat-docent

(Travail du laboratoire bactériologique de l'Académie de médecine militaire de Saint-Pétersbourg.)

En étudiant d'après la méthode de Wright les modifications en teneur d'opsonines du sang de chiens, inoculés par le pneumocoque, nous avons constaté le fait intéressant qui suit :

Nous procédions avec une émulsion de diplocoques virulents dans une solution de chlorure de sodium à 0,85 0/0. Les diplocoques ayant préalablement subi une série de passages par des lapins, avaient été cultivés sur du sérum sanguin coagulé et avaient bien conservé leurs capsules. Dans ces conditions nous avons observé une absence presque complète de phagocytose, même quand un mélange de leucocytes, de sérum et de diplocoques était maintenu à l'étuve pendant 30 minutes.

Nous obtenions le même résultat, tout aussi bien avec le sang des chiens normaux qu'avec celui des chiens définitivement guéris après des injections répétées de pneumocoques, quelques jours après que la température avait été normale et l'animal gai.

Si, par contre, cette même culture virulente avait été bien lavée dans une solution physiologique, si on la centrifugeait à plusieurs reprises et si l'on répétait l'expérience avec ces diplocoques lavés on obtenait une forte phagocytose, bien que les capsules des diplocoques fussent demeurées intactes après le lavage.

Nous avons constaté ensuite que les diplocoques, bien lavés et énergiquement phagocytables, perdaient de nouveau leur propriété d'être englobés par les leucocytes si on les mélangeait à la partie liquide de l'émulsion primitive de diplocoques, séparée d'eux par centrifugation.

En même temps les leucocytes, qui ne phagocytaient pas ces diplocoques, englobaient avec avidité d'autres microbes non virulents, les staphylocoques et les bacilles typhiques par exemple.

Il s'ensuit que l'absence de phagocytose des diplocoques virulents provient non pas du manque d'opsonines dans le sérum des chiens et non pas de l'incapacité phagocytaire des leucocytes eux-mêmes, car ces mêmes leucocytes englobaient très bien les mêmes diplocoques, lavés préalablement, aussi bien que les staphylocoques et les bacilles typhiques; mais cette absence de phagocytose doit être due à la présence dans les cultures de diplocoques virulents, de certaines substances, empêchant la phagocytose.

Nous proposons de donner à ces substances, qui défendent les microbes contre l'englobement des phagocytes, le nom *d'antiphagines*.

L'expérience suivante va démontrer ce que nous venons d'avancer.

Nous avons prélevé du sang à un chien complètement guéri, 11 jours après une inoculation sous-cutanée d'un dizième de culture de diplocoques sur sérum.

Le sang avait été mélangé avec une solution de citrate de soude à 1/2 0/0; les éléments cellulaires avaient été éliminés par centrifugation et lavés avec une solution physiologique.

Pour être brefs, nous nommerons simplement « leucocytes » ce mélange de leucocytes et de globules sanguins rouges.

Nous avons obtenu ensuite du sérum de ce même chien.

Une culture (sur sérum) de diplocoques virulents, âgée de 24 heures, était mélangée avec une solution physiologique et préparée en émulsion d'après Wright.

Une partie de cette émulsion était gardée pour l'expérience, tandis qu'une autre partie était exposée à une centrifugation prolongée afin de séparer la partie liquide d'avec les coccus.

Nous nommerons la partie liquide contenant les antiphagines « solution d'antiphagines ».

Les diplocoques centrifugés étaient soigneusement lavés à la solution physiologique, recentrifugés, relavés avec une nouvelle solution physiologique et ainsi de suite à plusieurs reprises.

Voici les mélanges que nous avions préparés :

N° 1.	Leucocytes du chien	+	son sérum	+	émulsion de diplocoques virulents.		
N° 2.	—	— +	—	+	—	—	lavés.
N° 3.	—	— +	—	+	mélange de diplocoques lavés avec une solution d'antiphagines.		
N° 4.	—	— +	—	+	mélange de staphylocoques avec une solution d'antiphagines.		

Tous ces mélanges étaient maintenus à l'étuve pendant 30 minutes.

Résultat :

N° 1. Sur 100 leucocytes 40 coccus englobés.
N° 2. — — 456 — —
N° 3. — — 65 — —
N° 4. Les leucocytes étaient bondés de coccus englobés.

Cette expérience démontre combien le lavage des diplocoques avait notablement augmenté leur propriété d'être englobés par les leucocytes.

Elle démontre aussi un nouvel abaissement de la phagocytose dû à l'addition d'une solution d'antiphagines aux diplocoques lavés.

Enfin, l'englobement actif des staphylocoques par les leucocytes en présence des antiphagines diplococciques, prouve la spécificité de ces substances : elles ne défendent de la phagocytose que les microbes desquels elles dérivent.

Nous avons constaté la même défense spécifique des diplocoques par leurs antiphagines pour les leucocytes des lapins.

N° 1.	Leucocytes de lapin	+	son sérum	+	émulsion de diplocoques.
N° 2.	—	— +	—	+	émulsion de culture typhique.
N° 3.	—	— +	—	+	mélange d'antiphagines diplococciques avec une émulsion typhique.

Tous ces mélanges avaient été maintenus à l'étuve pendant 20 minutes.

Résultat :

N° 1. Sur 100 leucocytes — 21 coccus englobés.
(Nous avions observé 19 coccus dans 90 leucocytes.)

N° 2. } N° 3. } La phagocytose était tellement forte dans ces deux mélanges, qu'il était difficile de compter les bacilles typhiques englobés.

La présence d'antiphagines ne se manifeste que dans les cultures virulentes de diplocoques.

Parallèlement à l'affaiblissement de la virulence, disparaît aussi la production d'antiphagines.

Par contre, les diplocoques renforcés au moyen de passages par des lapins recommencent à produire des antiphagines.

L'étude de l'influence thermique sur les antiphagines démontre que ces substances sont thermostabiles : elles supportent le chauffage à 85-95° C. pendant une heure et l'ébullition à 100° pendant 20 minutes, sans perdre leur propriété antiphagocytaire.

L'expérience suivante en fournit un exemple :

N° 1.	Leucocytes	normaux	du chien	+	son sérum	+	émulsion de diplocoques virulents.
N° 2.	—	—	—	+	—	+	émulsion de diplocoques lavés.
N° 3.	—	—	—	+	—	+	diplocoques lavés, mélangés avec une solution d'antiphagines.
N° 4.	—	—	—	+	—	+	diplocoques lavés, mélangés avec une solution d'antiphagines, chauffée, pendant 1 h. à 80-85°.
N° 5.	—	—	—	+	—	+	diplocoques lavés — une solution d'antiphagines, soumise à l'ébullition pendant 20 minutes.

Résultat :

N° 1.	Sur 100 leucocytes	—	8	coccus englobés.
N° 2.	—	—	338	—
N° 3.	—	—	13	—
N° 4.	—	—	11	—
N° 5.	—	—	12	—

Nous étant rendu compte des principales propriétés des antiphagines diplococciques, nous devons établir leurs relations avec les toxines bactérielles, les agressines et les opsonines.

Les antiphagines diplococciques diffèrent des pneumotoxines, avant tout par leur résistance à la température. D'après les observations des frères Klemperer et d'Issaieff, les toxines des pneumocoques sont déjà détruites à 60-70°. Par contre, nos expériences ont démontré que les antiphagines ne perdaient point complètement leurs propriétés, même étant

chauffées pendant une heure jusqu'à 90-95° ou bien soumises à une courte ébullition.

Les antiphagines n'ont pas d'influence toxique appréciable sur les leucocytes : ceux-ci englobent très bien des staphylocoques et d'autres microbes en présence d'antiphagines diplococciques.

Les agressines de Bail diffèrent, elles aussi, des antiphagines par une moindre résistance au chauffage, car elles sont détruites à 70°.

En outre, si l'on ne considère comme agressines que les substances ayant une action « agressive », qui affaiblit l'organisme infecté, il serait à peine possible de ranger parmi elles les antiphagines, substances microbiennes défensives.

Mais puisque Bail, Kikucki, Lévy et Fornet distinguent, parmi les propriétés des exsudats agressifs, celle d'empêcher la phagocytose et puisque les exsudats peuvent contenir les produits microbiens les plus variés, il se peut très bien que ces exsudats contiennent entre autres des antiphagines.

Les relations entre les antiphagines et les opsonines sont encore loin d'être déterminées.

Il est très probable que les antiphagines sont élaborées par les microbes comme produits de défense. Elles peuvent être des « antiopsonines » et la propriété acquise par les microbes pendant la vie dans l'organisme vivant, serait encore conservée pendant quelque temps dans les milieux de culture, comme par exemple la propriété de produire des capsules.

La supposition contraire — c'est-à-dire que les opsonines seraient des anti-antiphagines — peut aussi être admise.

La présence d'antiphagines dans les cultures virulentes des microbes doit être, entre autres, prise en considération dans l'appréciation des résultats de la détermination de l'index phagocytaire.

SENSIBILISATRICE SPÉCIFIQUE

dans les sérums des animaux traités par le "M. Melitensis" et dans le sérum des malades atteints de fièvre méditerranéenne.

PAR A. SICRE

Médecin aide-major de 1re classe.

Laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire de Tunis.

Depuis que les travaux de Bordet et Gengou ont établi la présence d'une substance sensibilisatrice spécifique dans un grand nombre de sérums antimicrobiens[1], dans le sérum des individus *vaccinés* aussi bien que dans celui des *infectés ;* depuis enfin que la *réaction de fixation* de ces auteurs a été recherchée avec succès dans le sérum de malades atteints de fièvre typhoïde[2], de dysenterie bacillaire[3] ou de fièvres paratyphoïdes[4], il semble que l'étude d'une entité morbide infectieuse ne soit vraiment complète qu'après la découverte du pouvoir sensibilisateur spécifique dans le sérum des malades.

C'est par la méthode de Bordet et Gengou que Müller et Oppenheim[5] découvrirent les *anticorps* du gonocoque dans le sang des individus atteints de blennorragie et que récemment encore, Wassermann, Neisser et Bruck[6] ont essayé de créer une méthode de diagnostic de la syphilis.

MM. Bordet et Gengou eux-mêmes[7], il y a quelques jours à peine, utilisaient leur réaction de fixation pour établir la relation intime entre la coqueluche et le microbe isolé par eux des exsudats bronchiques des jeunes enfants atteints de cette maladie.

Or, à l'étude de la fièvre méditerranéenne précise au point

1. BORDET et GENGOU, *Annales de l'Institut Pasteur* 1901.
2. WIDAL et LE SOURD, *Soc. méd. des Hôpitaux,* 14 juin 1901.
3. CH. DOPTER, *C. R. Soc. de Biologie,* 11 et 18 mars 1905.
4. RIEUX et SACQUÉPÉE, *C. R. Soc. de Biologie,* 25 nov. 1905.
5. MULLER et OPPENHEIM, *Wien. klin. Wochen.* 1906, vol. XIX, nº 29.
6. WASSEMANN, NEISSER et BRUCK, *Deutsche med. Woch.* 1906, vol. XXXII, nº 19.
7. BORDET et GENGOU, *Annales de l'Institut Pasteur* 1907.

de vue clinique et bactériologique, manquait la recherche des *anticorps*.

J'ai jugé utile de la poursuivre pour affermir l'individualité de cette maladie, pour mieux établir la relation indissoluble entre la fièvre de Malte et le *micrococcus melitensis* et pour vérifier enfin la spécificité des divers échantillons de ce microbe isolé soit à Malte, soit à Tunis.

Le matériel nécessaire aux expériences a été rassemblé par M. C. Nicolle, directeur de l'Institut Pasteur de Tunis[1]. Les cas de fièvre méditerranéenne ne sont pas, sur le littoral tunisien, d'une extrême fréquence; ils appartiennent en outre presque exclusivement à la population israélite ou maltaise qui, d'ordinaire méfiante, ne permet pas des récoltes copieuses de sérum[2].

Les investigations ont porté sur des sérums de malades prélevés au cours d'une période de deux ans et conservés aseptiquement.

Les échantillons les plus vieux avaient subi, au moment des expériences, une baisse très sensible de leur pouvoir agglutinant; les plus récents avaient conservé à peu près intégralement leur puissance d'agglutination.

Trois sérums d'animaux vaccinés contre le *m. melitensis* ont été soumis aussi aux épreuves de la réaction de fixation :

1° Un sérum d'âne immunisé depuis un an par M. C. Nicolle contre le *m. melitensis* (échantillon de Shaw n° 1) par l'inoculation de cultures vivantes ;

2° Un sérum de lapin immunisé contre le *m. melitensis* (échantillon de Shaw) ;

3° Un sérum de lapin vacciné avec le *m. melitensis* (échantillon de Tunis)[3].

Les épreuves ont été faites avec six échantillons de *m. m.* de provenances diverses que j'ai désignés pour plus de commodité par les lettres suivantes :

1. L'extrême complaisance de M. C. Nicolle m'a permis d'opérer ces recherches. Je suis très heureux de pouvoir lui adresser ici mes bien vifs remerciements.

2. Malades de la clientèle de MM. les Drs Cathoire, Hayat et Triolo.

3. L'inoculation a été pratiquée avec une émulsion bien homogène en eau distillée obtenue par le raclage d'une culture sur agar âgée de 4 jours. Chaque lapin a été saigné 25 jours environ après avoir reçu sous la peau 1/2, 1 et 2 c. c. de l'émulsion.

B_p	Échantillon de Malte **Bruce**.
Sh_1	Échantillon de Malte **Shaw**.
Sh_2	
Sh_3	
K..................	Échantillon de Tunis. **Kràl**.
T_R	Échantillon de Tunis. **C. Nicolle isolé par ponction de la rate.**

Du sérum antityphique, du sérum normal de cheval et de lapin, des sérums de malades atteints de fièvre typhoïde ou d'affections diverses, enfin du bacille d'Eberth, du bacille paratyphique A (échantillons Brion-Kayser et échant. de Tunis, Nicolle et Cathoire, 1905) ont été soumis aux mêmes épreuves comme témoins.

Je serai bref au sujet de la technique que j'ai employée pour ces recherches. C'est celle de Bordet adoptée par MM. Widal et Le Sourd pour les sérums typhoïques et par M. Ch. Dopter pour les sérums dysentériques.

Le sérum contenant les anticorps à déterminer était chauffé d'abord à 56° pendant trente minutes pour détruire la cytase. Il était mélangé ensuite à la dose de neuf ou dix-huit gouttes, suivant son abondance, avec cinq ou dix gouttes d'émulsion bien homogène de *m. melitensis* dans l'eau physiologique et de deux ou quatre gouttes de sérum alexique de cobaye saigné la veille ou le jour même de l'expérience.

L'émulsion homogène de *m. melitensis* a toujours été préparée avec des cultures sur agar âgées de quatre jours, le *m. melitensis* ne donnant une culture suffisamment riche qu'après un séjour minimum de trois jours à l'étuve à 37°.

Après cinq heures de contact, le mélange microbes, alexine, sérum chauffé était additionné de deux à quatre gouttes, suivant le cas, d'un deuxième mélange ainsi constitué :

Une partie globules rouges de lapin longuement lavés à l'eau physiologique.

Deux parties de sérum hémolytique pour ces globules (sérum provenant de cobayes préparés par des injections intrapéritonéales répétées de sang défibriné de lapins et chauffé à 56° pendant trente minutes).

Les mélanges ainsi préparés étaient maintenus à la température ordinaire du laboratoire et examinés pendant vingt-quatre heures environ.

Les résultats de la réaction de fixation commencent à apparaître dès la fin de la première heure de contact.

J'ai considéré la réaction de fixation comme positive toutes les fois que les globules rouges formaient, au fond du tube, un agglutinat compact avec clarification nette du liquide séreux sus-jacent ; elle a été jugée négative chaque fois que toute la masse liquide était hémolysée. Enfin, la vérifica-

tion au microscope a révélé, dans les cas positifs, l'intégrité des globules rouges agglutinés dans les cas négatifs, la présence seule du stroma globulaire nettement décoloré.

SÉRUMS DES ANIMAUX VACCINÉS AVEC LE « M. MELITENSIS »

Le sérum d'âne et les sérums de lapins vaccinés ont été expérimentés vis-à-vis des divers échantillons de *m. m.* énuméré plus haut, et en présence de témoins représentés d'une part par du sérum de lapin et de cheval normaux, par du bacille paratyphique et du bacille d'Eberth d'autre part.

TABLEAU I

	Taux d'agglutination avec m. melitensis.	RÉACTION DE FIXATION								
		Micrococcus melitensis.						B. paratyphique du type A		Eberth.
		Br	Sh_1	Sh_2	Sh_3	K	Tr.	BrK.	T	
Sérum d'âne immunisé....	1/2000	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Sérum de lapin immunisé.	1/100	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Sérum de lapin immunisé.	1/80	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Sérum de lapin normal....	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sérum de cheval normal...	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Les résultats consignés dans le tableau I se résument ainsi :

Le sérum des animaux vaccinés contre le m. melitensis *contient une substance sensibilisatrice spécifique vis-à-vis de l'échantillon microbien utilisé pour l'immunisation et vis-à-vis des autres microbes du même type, mais d'origines diverses. Les anticorps spécifiques ainsi décelés paraissent indépendants du pouvoir agglutinant.*

La réaction de fixation apparaît avec la même netteté sur un sérum fortement agglutinant aussi bien que sur les sérums dont l'agglutinine est faiblement active.

TABLEAU II

Numéros.	OBSERVATION RÉSUMÉE DES MALADES	AGGLUTINATION avec m. mélitensis. Au moment du prélèvement	AGGLUTINATION avec m. mélitensis. Au moment des expériences.	RÉACTION DE FIXATION — Micrococcus melitensis. Br	Sh_1	Sh_2	Sh_3	K	Tr	B paratyph. A Br Kay.	B paratyph. A Tunis.	Eberth.
I	F. M. d'intensité moyenne mais de très longue durée (210 jours). Guérison. Sérum prélevé le 204e jour de la maladie.	1/100	1/5	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de pneumonique.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II	F. M. Très grave, de courte durée (60 jours). Mort. Sérum prélevé le 30e jour.	1/100	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Témoin.	**Sérum de typhoïdique**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	+
III	F. M. de moyenne intensité; de très longue durée (neuf mois). Sérum prélevé le huitième mois de la maladie.	1/200	1/20	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de paratyphoïdique (type A).**	O	O	—	—	—	—	—	—	+	+	—
IV	F. M. bénigne, de courte durée (60 jours), terminée par guérison. Sérum prélevé le 60e jour.	1/500	0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum antityphique.**	O	O	—	—	—	—	—	—	+	+	+

TABLEAU III

Numéros.	OBSERVATION RÉSUMÉE DES MALADES	AGGLUTINATION avec m. melitensis. Au moment du prélèvement.	Au moment des expériences.	RÉACTION DE FIXATION — Micrococcus melitensis. Br	Sh$_1$	Sh$_2$	Sh$_3$	K	Tr	B paratyph. A Br Kay.	A paratyph. B Tunis.	Ebehtr.
V	F. M. assez grave. Durée : 150 jours. Guérison. Sérum prélevé le 30e jour.	1/200	1/75	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de thyphoïdique.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	+
VI	F. M. bénigne; de très longue durée (310 jours). Guérison. Sérum prélevé le 102e jour.	1/1800	1/100	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de pneumonique.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—
VII	F. M. très bénigne. Durée . 50 jours. Sérum prélevé le 23e jour.	1/50	1/30	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de pleurésie tubercul.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—
VIII	F. M. de moyenne intensité, 91 jours. Guérison apparente. Rechute deux mois après. Durée totale : 6 mois environ. Sérum prélevé le 40e jour.	1/2000	1/800	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum de typhoïdique.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	+
IX	F. M. de moyenne intensité. Sérum prélevé à la période d'état.	1/100	1/100	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Témoin.	**Sérum d'angine simple.**	O	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—

SÉRUM DES MALADES

Les sérums de malades soumis aux épreuves de la réaction de fixation sont de provenances diverses et de dates différentes.

Je les ai numérotés pour plus de clarté.

Les cinq premiers, conservés pendant un ou deux ans environ, avaient subi une baisse très sensible du pouvoir agglutinant (je l'ai indiquée dans les tableaux ci-dessous qui groupent les épreuves).

Le sérum II, altéré par un développement microbien, avait perdu son agglutinine.

Cette altération explique vraisemblablement le résultat négatif qu'il a donné pour la réaction de fixation.

Les sérums VI, VII et VIII, prélevés plus récemment (six mois environ), avaient perdu également une partie de leurs propriétés agglutinantes.

Le sérum IX était frais au moment des recherches.

Tous ces sérums proviennent de malades atteints de F. M. à des degrés divers : ils ont été prélevés dans des cas bénins, de moyenne intensité on de grande gravité, à la période d'état au déclin de la maladie ou au début de la convalescence.

Leur « étiologie méditerranéenne » a été vérifiée, dans tous les cas, par l'agglutination et l'observation clinique. Elle n'a pu, à notre regret, être précisée par l'isolement du microbe, pour les raisons que nous avons exposées ci-dessus.

La lecture des tableaux II et III montre que la réaction de fixation donnée par ces sérums, en présence de témoins divers, a été positive avec tous lès échantillons de *m.m.*, indépendamment du taux et malgré l'affaiblissement du pouvoir agglutinant.

CONCLUSIONS

1° Des anticorps spécifiques, décelables par la réaction de fixation de Bordet, existent dans le sérum des animaux en état d'immunité active contre le *m. melitensis* et dans le sérum des malades atteints de F. M. ;

2° Ces anticorps se fixent sur les échantillons de *m. melitensis* de provenances diverses, aussi bien que sur le microbe vaccinant ou infectant;

3° Ces anticorps paraissent sans relations avec l'agglutinine du sérum, puisque la réaction de fixation est nettement positive dans tous les cas, indépendamment du taux et malgré l'affaiblissement de l'agglutination.

Ces faits concordent avec ceux que MM. Bordet, Widal et Le Sourd ont observés dans la fièvre typhoïde et avec ceux que M. Ch. Dopter a vus dans la dysenterie bacillaire.

1er août 1907.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE AOUT 1908. No 8

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

L'absorption de l'alexine et le pouvoir antagoniste des sérums normaux.

PAR LES Drs J. BORDET ET F. PARKER GAY

(Travail de l'Institut Pasteur de Bruxelles.)

La méthode de la fixation de l'alexine s'est montrée susceptible d'utiles applications. Basée sur cette constatation [1] que les microbes ou les globules rouges sensibilisés ont acquis, grâce précisément à l'influence de la sensibilisatrice appropriée, le pouvoir de fixer avidement l'alexine et de la faire disparaître ainsi du liquide ambiant, cette méthode a permis [2] de démontrer, il y a sept ans, que : *a*) la production de sensibilisatrices spécifiques chez les animaux vaccinés contre les microbes, est un fait général, se vérifiant quel que soit le microbe mis en jeu; *b*) en conséquence, si de nombreux microbes se montrent rebelles à la bactériolyse sous l'influence de l'immunsérum approprié, ce n'est point pour la raison que ce sérum ne contient pas les substances actives requises, mais bien parce que les microbes considérés opposent au pouvoir bactéricide une remarquable résistance; *c*) comme le pouvoir agglutinant, la fixation de l'alexine, sous l'influence des immunsérums, peut être utilisée pour la diagnose des microbes, d'une manière même plus générale, car l'on rencontre des cas où le sérum est sensibilisateur sans être agglutinant.

Gengou [3] démontra, l'année suivante, que ce fait de l'apparition régulière de sensibilisatrices au cours de l'immunisa-

1. BORDET, Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines, etc... Ces *Annales*, 1900.
2. BORDET et GENGOU, Sur l'existence de sensibilisatrices dans les sérums antimicrobiens. Ces *Annales*, 1901.
3. Les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes. Ces *Annales*, 1902.

tion a une portée plus générale encore ; en effet, le sérum des animaux immunisés contre des éléments albuminoïdes non figurés (caséine, fibrinogène, sérum étranger, etc.), sensibilise ces substances, c'est-à-dire leur octroie le pouvoir d'absorber l'alexine.

Les applications de cette méthode qui ont été réalisées ultérieurement sont, de même que la technique suivie, trop connues pour qu'il soit utile de les rappeler. Mais les résultats qu'elle fournit peuvent être influencés dans une réelle mesure par certains facteurs auxquels on ne prête pas toujours l'attention qu'ils méritent. L'une de ces influences, sur laquelle nous nous proposons d'insister particulièrement, c'est celle de la teneur des mélanges en solution physiologique. Cette influence, qui se manifeste dans beaucoup d'expériences relatives à l'hémolyse, fournit, d'après nous, une explication très simple des phénomènes observés par MM. Pfeiffer et Friedberger, par M. Sachs, à propos de ce que ces savants ont appelé le pouvoir antagoniste des sérums normaux. M. Sachs interprète ce pouvoir d'une manière assez compliquée, qui, ainsi que nous le verrons plus loin, nous paraît inexacte.

Quand on mélange, en vue d'obtenir la fixation de l'alexine, du sérum frais d'animal neuf (alexine), du sérum sensibilisateur approprié (préalablement chauffé à 55°) et les éléments étudiés, qui sont généralement des globules ou des microbes, ces éléments sont ordinairement introduits sous forme de suspensions dans la solution physiologique de NaCl. Mais la quantité de cette solution est variable ; pour ce qui concerne les globules, beaucoup d'auteurs emploient une dilution étendue de ces éléments, par exemple de la solution salée contenant seulement 5 0/0 de sang, et font intervenir ainsi un volume relativement grand de cette suspension.

Or, divers expérimentateurs ont remarqué depuis longtemps que dans la solution physiologique, l'hémolyse s'opère avec une activité remarquable. Des globules en même quantité, soumis à l'action d'une même dose d'alexine et de sensibilisatrice, se détruisent en général plus vite si le liquide qui sert de véhicule pour la dilution des hématies et des substances actives, est de la solution physiologique, que s'il consiste en un sérum normal considéré comme inerte et chauffé préa-

lablement à 56° [1]. — Comparée à la dilution dans un sérum normal censé inerte, la dilution dans la solution physiologique favorise l'hémolyse, ce qu'on peut exprimer en termes plus exacts en disant que le sérum normal exerce sur l'hémolyse une influence empêchante ; il faut ajouter que celle-ci n'est très manifeste que si la sensibilisation des globules n'est pas très énergique. En quoi consiste cette influence antagoniste ? Comme l'ont démontré MM. Pfeiffer et Friedberger (à propos de la bactériolyse), M. Sachs, le sérum normal n'agit pas en affaiblissant la sensibilisation ; il n'agit pas non plus directement sur les globules ou les microbes. Nous aurons à discuter l'avis de M. Sachs, d'après lequel ce sérum agirait parce qu'il contient des ambocepteurs normaux qui accaparent l'alexine. Comme MM. Muir et Browning l'ont affirmé avec raison, le sérum est antagoniste parce qu'il met obstacle à la fixation de l'alexine sur les éléments sensibilisés, et cet obstacle n'est vaincu que si l'avidité de ceux-ci pour l'alexine est fort accusée, c'est-à-dire s'ils sont impressionnés par une dose assez forte de sensibilisatrice, ou bien encore si l'on favorise l'absorption de l'alexine en ajoutant de la solution salée.

L'exemple (déjà signalé par M. Sachs) du sérum de lapin neuf, fonctionnant comme antagoniste vis-à-vis de l'hémolyse de globules de bœuf traités par un peu de sensibilisatrice (sérum, chauffé à 56°, de lapin immunisé contre le sang de bœuf) et mis en présence d'alexine (sérum frais de cobaye) convient bien à l'étude qui nous intéresse. Il est utile de le considérer d'assez près pour pouvoir envisager l'interprétation apportée par M. Sachs, qui dans ses recherches, a employé également le sérum de lapin. Aussi entrerons-nous dans quelques détails [2]. L'expérience suivante montre que des globules

1. C'est, pensons-nous, M. Muller (*Centralbl. für Bakteriologie* 1901, Bd. XXX) qui autrefois a le plus attiré l'attention sur ce fait, lequel plus récemment a été considéré par divers savants notamment, MM. Muir et Browning (*Journal of Hygiène*. Vol. VI, n° 1, 1906), MM. Liebermann et Fenivessy (*Pester Médic. Chirurg. Pressen* 1907), etc. Nous avons signalé en 1906 (Ces *Annales*) les recherches de M. Klein et les nôtres à propos du sérum de cheval, dont l'alexine s'absorbe beaucoup mieux par les globules en présence de solution physiologique.

2. Le sérum de lapin convient bien dans ce cas parce qu'il ne sensibilise par lui-même les globules de bœuf que faiblement. Quand un sérum neuf exerce sur le globule mis en jeu une influence sensibilisatrice bien nette, il est clair qu'on ne pourrait le faire intervenir dans les expériences comme « véhicule inerte ». En principe, il n'existe peut-être pas de sérum qui soit absolument inerte, mais l'influence sensibilisatrice exercée sur les éléments tels que microbes ou hématies d'espèce étrangère est parfois (comme dans le cas présent) si faible qu'elle passe inaperçue.

médiocrement sensibilisés s'hémolysent sous l'influence de l'alexine lorsque le liquide servant de véhicule contient une assez forte proportion de solution physiologique, tandis qu'ils restent intacts ou ne s'altèrent que fort lentement si le liquide où ils baignent est moins riche en solution physiologique, mais renferme par contre une certaine dose de sérum normal (chauffé préalablement à 56°) de lapin.

Dans un tube A on introduit 0, 6 c. c. de solution physiologique (NaCl 0,9 0/0); dans un tube B, 0,3 c. c. de solution physiologique et 0, 3, c. c. de sérum normal de lapin (préalablement chauffé à 56° pendant 1/2 heure). On ajoute à chacun des deux tubes 0,05 d'alexine (sérum frais de cobaye neuf) et 0,3 c. c. de solution physiologique contenant 10 0/0 de sang de bœuf médiocrement sensibilisé [1].

Les tubes A et B sont mis à l'étuve à 35°. L'hémolyse est totale dans le tube A au bout d'une demi-heure. Après 3 heures, les globules sont encore intacts dans le tube B ; un peu d'hémolyse y survient dans la suite, mais qui reste très faible. Inutile de dire que l'expérience comporte des mélanges témoins A T et B T, respectivement identiques à A et à B, sauf que le sang de bœuf n'y est pas sensibilisé; dans ces mélanges, aucune hémolyse n'apparaît.

On voit donc que la présence d'un peu de sérum normal inhibe très nettement l'hémolyse ; des expériences complémentaires montrent que cette influence antagoniste est d'autant plus accusée que le mélange renferme plus de sérum normal 56° et moins de solution physiologique.

On peut se demander si le pouvoir antagoniste du sérum normal est intense. Les deux facteurs de l'hémolyse étant la sensibilisatrice et l'alexine, on peut rechercher si le sérum normal peut combattre efficacement l'influence d'une dose assez élevée soit d'alexine, soit de sensibilisatrice. L'expérience montre que le sérum manifeste encore son action retardatrice lorsque la dose d'alexine est assez élevée. Par exemple :

Un mélange A constitué de : 0,6 c. c. de solution physiolo-

1. Ce sang est préparé comme suit : A 1 c. c. de sang de bœuf (qu'on a lavé au préalable pour le débarrasser de toute trace de sérum) on ajoute 9 c. c. de solution physiologique et 0,1 c. c. de sérum 56° de lapin immunisé contre le sang de bœuf. On agite; après 20 minutes on centrifuge et décante le liquide surnageant. Sur le sédiment de globules on verse 10 c. c. de solution physiologique.

gique[1] 0,05 c. c. d'alexine de cobaye, 0,2 c. c. de solution physiologique contenant 40 0/0 de sang de bœuf sensibilisé[2], offre une hémolyse plus rapide qu'un mélange B contenant le même volume de sang et une dose d'alexine double, mais qui renferme, au lieu de 0,6 c. c. de solution physiologique, 0,6 c. c. de sérum normal 56° de lapin.

Si d'autre part les globules sont fortement sensibilisés, l'influence antihémolytique du sérum normal 56° devient moins évidente, sans toutefois s'annuler. L'expérience suivante met en jeu des doses de sérum normal qui, sans être bien grandes, produisent cependant des effets très nets.

Quatre tubes contiennent :

A et C : 0,7 c. c. de solution physiologique ;

B et D : 0,4 c. c. de solution physiologique et 0,3 c. c. de sérum 56° de lapin.

On verse dans A et B 0,25 c. c. de solution physiologique contenant 40 0/0 de sang de bœuf qui a été faiblement sensibilisé (une partie de sensibilisatrice de lapin anti-bœuf pour 10 parties de sang) ; C et D reçoivent la même quantité d'une émulsion sanguine analogue, mais dont le sang a été traité par une quantité trois fois plus grande de sensibilisatrice. On ajoute aux quatre tubes 0,05 d'alexine de cobaye, et l'on porte à l'étuve à 35°. L'hémolyse s'effectue en 12 minutes dans C, en 35 dans A. En D, elle n'est pas complète au bout d'une heure ; B ne s'hémolyse pas.

Quelle est la cause de l'influence inhibitrice exercée par le sérum normal ? Il est facile de prouver que le sérum n'agit pas en supprimant la sensibilisation des globules. Cette notion, démontrée déjà par nos prédécesseurs, résulte d'expériences très simples consistant en ceci : si l'on prend un mélange constitué de globules de bœuf médiocrement sensibilisés et qui baignent dans du sérum normal 56° de lapin additionné d'alexine de cobaye, l'hémolyse fait défaut en raison du pouvoir antagoniste du sérum normal. Mais si ultérieurement l'on centrifuge et décante le liquide surnageant, qu'on remplace par un volume

1. On emploie dans toutes les expériences la solution de NaCl à 0,9 0/0.

2. Ce sang, dont la sensibilisation est relativement assez forte, est préparé comme suit : A 1 c. c. de sang de bœuf préalablement lavé, on ajoute 9 c. c. de solution physiologique et 0,5 c. c. de sérum de lapin anti-bœuf 56°. Contact une heure, centrifugation, décantation du liquide. On verse sur le sédiment de globules 2,5 c. c. de solution physiologique.

équivalent de solution physiologique additionnée d'une trace d'alexine, l'hémolyse apparaît, montrant ainsi que les hématies avaient gardé intacte leur sensibilisation.

Ce résultat démontre également que le sérum normal 56° n'agit pas directement sur les globules pour les rendre réfractaires à l'hémolyse. On pourrait supposer qu'il contient des « complémentoïdes » saturant les affinités du globule sensibilisé et gênant par conséquent l'absorption de l'alexine active. L'expérience précédente dément cette hypothèse.

Le sérum normal, sans action sur la sensibilisation et sur les globules, ne détruit pas et ne neutralise pas davantage l'alexine. Mais il s'oppose à la fixation de celle-ci sur les globules sensibilisés ; telle est l'explication de l'obstacle apporté à l'hémolyse.

Que le sérum normal n'altère pas l'alexine, cela résulte de ce fait qu'étant donné un mélange de sérum normal, d'alexine et de globules médiocrement sensibilisés, il suffit pour faire apparaître l'hémolyse, qui jusqu'alors faisait défaut, de diluer simplement le sérum antagoniste en ajoutant à ce mélange un volume assez fort de solution physiologique; cela revient à dire ce que nous énoncions plus haut, à savoir que l'obstacle opposé à l'hémolyse dépend de la concentration du sérum normal. En étudiant ce fait, MM. Muir et Browning ont clairement démontré que l'alexine ne se fixe pas sur les globules pendant la première partie de l'expérience, c'est-à-dire au moment où le mélange est riche en sérum et pauvre en solution saline, et n'est absorbée par eux qu'après addition d'une quantité suffisante de cette solution. Bien plus, l'expérience conduit à des résultats semblables, même (et c'est sous cette forme que nous l'avons réalisée), si l'on sensibilise les globules assez fortement pour obtenir une hémolyse complète avant la dilution par la solution physiologique. Cette hémolyse s'accompagne naturellement d'une absorption d'alexine, mais, si les doses sont convenables et si la sensibilisation n'est pas trop exagérée, on peut démontrer que cette absorption n'est que partielle et reste nettement inférieure à celle qui se serait produite si le mélange avait été en outre additionné d'une proportion notable de solution salée.

***

Quelles réflexions ces faits nous suggèrent-ils au point de

vue du mode d'union de l'alexine avec les globules sensibilisés? L'un de nous[1] a émis l'opinion que cette fixation de l'alexine ne correspond pas à une combinaison chimique proprement dite de cette matière active avec un groupement spécial de la sensibilisatrice (groupement complémentophile de l'ambocepteur d'après Ehrlich), mais représente simplement un phénomène d'adhésion moléculaire (absorption), et cette manière de voir a été développée en 1906 dans ces *Annales* par les deux auteurs du présent article. Nous admettons que l'union de la sensibilisatrice et de l'hématie constitue un complexe ayant pour l'alexine une avidité d'absorption plus manifeste que celle du globule normal : l'alexine a tendance à se précipiter sur le globule sensibilisé, et l'attraction que celui-ci exerce est d'autant plus forte qu'il est sensibilisé plus énergiquement. Comment, dès lors, agit le sérum empêchant? Il nous paraît qu'il tend à maintenir l'alexine au sein du liquide dans un état plus marqué de suspension ou de dissémination, lui communique en d'autres termes un état d'équilibre plus stable; dans la solution physiologique, au contraire, cet état serait plus instable, c'est-à-dire que l'alexine se condenserait, se précipiterait plus aisément sur les éléments qui l'attirent.

Cette manière de voir nous semble en parfaite harmonie avec les faits observés par M. Gengou à propos de colloïdes ou de suspensions de précipités minéraux. En effet, M. Gengou[2] a vu que si l'on introduit des globules rouges lavés dans de la solution physiologique contenant en suspension un précipité minéral chimiquement inerte, tel que du sulfate de baryte, les globules et ce précipité s'agglomèrent mutuellement en flocons compacts et bientôt l'hémolyse apparaît. Mais si la suspension de sulfate de baryte est additionnée au préalable d'une trace de sérum, ce phénomène d'agglutination et d'hémolyse ne se produit pas. Or, on constate que la présence de sérum a pour effet de dissocier les particules de sulfate de baryte en lui donnant un aspect laiteux, le liquide ne se clarifiant désormais que fort lentement sous l'action de la pesanteur. Dans le cas de l'alexine comme dans celui du sulfate, la présence du sérum contrarie donc la précipitation sur les globules.

1. Ces *Annales* 1900 (les sérums hémolytiques); 1901 (les sérums cytolytiques) etc., etc.

2. Gengou. Ces *Annales* 1904.

Le citrate de soude exerce sur la suspension du sulfate de baryte une influence toute pareille à celle du sérum, la transforme également en un liquide laiteux, et, comme l'a constaté M. Gengou, lui enlève de même le pouvoir d'agglutiner et d'hémolyser les globules rouges. Et, à propos du citrate de soude, l'analogie se continue entre la précipitation du sulfate de baryte sur les globules et la fixation de l'alexine sur ces éléments sensibilisés. En effet, le citrate de soude, en doses convenables, protège les globules rouges contre les sérums hémolytiques, et l'on peut démontrer qu'il agit en s'opposant à la fixation de l'alexine sur les hématies sensibilisées[1]. — Le rapprochement entre le sulfate et l'alexine, au point de vue de l'action du citrate est évidemment suggestif.

Si l'on désirait, à propos du mode d'union de l'alexine et des globules sensibilisés, invoquer une comparaison sans doute un peu simpliste, mais qui semble néanmoins adéquate, on pourrait recourir à l'expérience familière que voici : L'eau roule sans y adhérer sur un verre de montre enduit de paraffine. Mais si l'eau contient en suspension du sulfate de baryte, on constate qu'au bout de quelques instants, la paraffine est mouillée et que l'eau s'étale, ce qui est dû à ce que la surface de la paraffine s'est tapissée, par adhésion moléculaire, d'une mince couche blanche de sulfate de baryte, mouillable par l'eau, qui résiste même à un rinçage et ne s'enlève que par frottement. Mais si nous tentons de reproduire l'expérience en nous servant d'une émulsion de sulfate qu'une trace de citrate sodique a rendue laiteuse, rien de pareil ne s'observe ; le sulfate refuse cette fois d'enduire la paraffine et celle-ci par conséquent ne se laisse point mouiller : Le citrate empêche la précipitation du sulfate sur la paraffine comme il inhibe celle de l'alexine sur les globules sensibilisés.

Nous n'aborderons pas le mécanisme de ce phénomène et n'insisterons pas sur les propriétés du citrate en matière d'hé-

1. Des globules sensibilisés restant intacts dans un liquide contenant du citrate et de l'alexine, on peut ensuite, après centrifugation et séparation des globules, montrer que le liquide contient encore de l'alexine et par conséquent peut hémolyser de nouveaux globules sensibilisés ; dans ce but, on l'additionne d'un peu de chlorure calcique qui neutralise l'action du citrate. Bien entendu, des témoins appropriés montrent qu'au début de l'expérience la fixation de l'alexine se serait opérée si l'on n'avait pas fait intervenir le citrate.

molyse, ces questions ayant été étudiées d'une manière détaillée à notre Institut par M. Gengou[1].

Quelques remarques se présentent, utiles à connaître pour l'application de la méthode basée sur l'absorption de l'alexine et en général pour les études relatives à l'hémolyse ou à la bactériolyse.

Tout d'abord, l'influence favorisante qu'exerce, sur la fixation de l'alexine, la présence d'une quantité assez forte de solution physiologique ne doit jamais être perdue de vue. L'expérience que l'on réalise lorsqu'on se sert de la méthode de la fixation de l'alexine comprend, on le sait, deux phases : Dans la première, on met au contact de l'alexine, un élément tel qu'un microbe, et un sérum A capable (ou supposé capable) de sensibiliser cet élément, c'est-à-dire de lui conférer le pouvoir de fixer l'alexine. Dans la seconde phase, on recherche, en introduisant des globules sensibilisés, si l'alexine a disparu du liquide ou bien est restée libre ; dans cette dernière éventualité, la fixation d'alexine s'opère, non dans la première phase (sur les microbes), mais au cours de la seconde (sur les globules), l'hémolyse apparaît, et l'on conclut alors que le sérum A n'est pas sensibilisateur on ne l'est qu'à un faible degré. Mais, pour que l'expérience soit correcte, il est clair que les deux phases dont elle se compose doivent être comparables au point de vue de la facilité avec laquelle l'alexine peut se fixer. Or, nous l'avons vu, un excès de sérum inhibe cette fixation, un excès de solution physiologique la favorise : il convient donc de maintenir autant que possible constante, pendant toute la durée de l'expérience, la teneur du mélange en solution saline et en sérum. Les globules sensibilisés qu'on introduit vers la fin de l'expérience se trouvent en suspension dans de la solution physiologique : il convient évidemment d'ajouter la quantité voulue d'hématies, en versant dans le mélange non pas un volume assez fort (1 c. c. par exemple) d'une suspension pauvre en globules, mais au contraire un volume aussi faible que possible (0.1 c. c. par exemple) d'une suspension qui en contient beaucoup. Si par exemple on avait mélangé tout d'abord 0,1 c. c. d'alexine, 0,3 c. c. de suspension microbienne

1. Divers résultats ont été communiqués par M. Gengou dans le *Bulletin de la Société de Biologie* (1907), notamment à propos de l'hémolyse par le sérum d'anguille et le venin.

et 0,3 ou 0,5 c. c. du sérum dont on veut mettre en évidence la sensibilisatrice antimicrobienne, la fixation de l'alexine sur les microbes rencontrera l'obstacle dû à la forte proportion du mélange en sérum, et ne pourra donc être absolument totale que si cette sensibilisatrice est remarquablement puissante. Et si plus tard, en ajoutant les hématies, on introduit beaucoup de solution saline qui atténue l'influence antagoniste, la moindre trace d'alexine restée libre pourra provoquer aisément l'hémolyse. La sensibilisatrice antimicrobienne, en conséquence, aura été désavantagée par rapport à la sensibilisatrice hémolytique intervenant ultérieurement, son existence pourra dès lors passer inaperçue. Ou bien (et cette erreur d'interprétation nous paraît avoir été commise)[1], on sera exposé à conclure que l'alexine qui se fixe sur un élément donné (tel qu'un microbe) n'est pas identique à celle qui se fixe sur un élément différent (tel qu'un globule) et l'on sera conduit ainsi à se rallier à la thèse erronée que l'alexine bactériolytique diffère de l'alexine hémolytique. Les applications nombreuses et variées que l'on peut faire de la méthode permettent invariablement de constater que les globules indicateurs de la fixation d'alexine restent intacts quels que soient les éléments sensibilisés mis en jeu dans la première phase de l'expérience, pourvu que la sensibilisatrice, en cause à ce moment, ait une puissance suffisante et qu'on respecte notamment la précaution relative à la teneur en solution physiologique que nous venons d'indiquer. Corrélativement, on doit tenir compte de la puissance comparée des deux sensibilisatrices qui, successivement, interviennent pour provoquer la fixation d'une seule et même alexine. Si la première n'est pas très puissante et ne parvient pas à enlever au liquide les dernières traces d'alexine, la méthode pourra donner des résultats totalement différents, suivant que les globules servant ensuite d'indicateurs sont fortement sensibilisés ou ne le sont que médiocrement, ces traces d'alexine suffisant à provoquer l'hémolyse dans le premier cas et se montrant impuissantes dans le second, grâce notamment à l'influence antagoniste du sérum, qui tend à maintenir l'a-

1. Nous croyons devoir critiquer à ce propos certaines expériences de M. Moreschi, qui semblent plaider en faveur de la pluralité de l'alexine (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1907, p. 1206 et 1207); en effet, en ajoutant les globules sensibilisés, ce savant introduit généralement un fort volume de solution physiologique (1 c. c.).

lexine disséminée dans le liquide. Deux tendances opposées, dont l'énergie est variable, sollicitent l'alexine, et le résultat dépend de l'équilibre qui s'établit entre elles. Dans cet ordre d'idées, il est facile de démontrer qu'à la suite d'un premier contact avec une forte dose de globules médiocrement sensibilisés, un liquide contenant de l'alexine pourra se comporter ensuite, vis-à-vis de globules identiques aux premiers et pareillement sensibilisés, comme s'il était dépouillé de cette matière active, et vis-à-vis de globules de même nature également, mais plus fortement sensibilisés, comme s'il en contenait encore. On n'admettra pas, cela va de soi, que l'alexine utilisée en cas de sensibilisation faible diffère de celle qui intervient en cas de sensibilisation supérieure. Telle est pourtant, semble-t-il, la conclusion de M. Remy [1]. Ce savant mélange à de l'alexine des bacilles typhiques sensibilisés; il constate que des globules introduits ensuite restent intacts dans ce liquide s'ils ont été sensibilisés par un sérum hémolytique d'activité moyenne, tandis qu'ils s'y détruisent si le sérum qui les a impressionnés au préalable est très puissant; il en déduit que l'alexine bactériolytique diffère de l'alexine hémolytique. Il aurait pu dans ces conditions admettre tout aussi bien qu'il existe une alexine particulière, spécialement destinée aux globules très fortement sensibilisés, puisque ceux-ci s'hémolysent dans un liquide où des hématies de même nature, mais impressionnées plus faiblement, restent intactes. En réalité, M. Remy a possédé un sérum hémolytique supérieur, comme pouvoir sensibilisateur, au sérum antityphique qu'il employait.

L'étude de la coqueluche a fourni à l'un de nous, en collaboration avec M. Gengou, des exemples analogues. Les sérums de trois enfants coquelucheux, frère et sœurs, sont éprouvés le même jour et aux mêmes doses ; on emploie comme d'habitude, pour rechercher si l'alexine a été fixée ou non par le microbe, des globules fortement sensibilisés. Dans le mélange témoin, contenant, outre l'alexine et les microbes, du sérum humain normal, l'hémolyse se fait en quelques minutes; elle s'opère respectivement en une demi-heure et en une heure dans les mélanges renfermant le sérum de deux des enfants ; les globules

1. Contribution à l'étude des substances actives du sérum. *Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique,* 1903.

restent absolument intacts en présence du troisième sérum. Les trois sérums coquelucheux sont donc inégalement actifs, et l'on trouve que le plus puissant provient de l'enfant qui le premier a été malade et est actuellement convalescent, que le plus faible appartient à l'enfant qui a été atteint en dernier lieu, et présente encore des symptômes très marqués. Le résultat est donc fort naturel, mais si le pouvoir sensibilisateur n'affectait jamais qu'une médiocre puissance, même chez les enfants guéris, on serait exposé peut-être à conclure, et cela bien à tort, que l'alexine active pour le microbe coquelucheux se distingue de l'alexine hémolytique.

En réalité, la méthode ne s'applique avec la rigueur voulue qu'à la mise en évidence des sensibilisatrices vraiment puissantes[1] elle s'approprie mal, par conséquent, au titrage précis de l'activité des sérums antimicrobiens ou tout au moins ne saurait être comparée, lorsqu'on l'emploie à cet usage, aux procédés d'une si remarquable exactitude que l'on doit à Ehrlich et qui servent à la mensuration du pouvoir antitoxique.

Au surplus, les auteurs qui ont fait connaître cette méthode l'ont recommandée plutôt pour l'étude qualitative des sérums que pour une évaluation quantitative d'activité.

***

Il nous reste à envisager brièvement les recherches de MM. Pfeiffer et Friedberger[2] et de M. Sachs[3] et qui concernent le pouvoir antagoniste (antibactériolytique ou antihémolytique) des sérums normaux.

Mais il convient d'émettre tout d'abord une remarque qui simplifiera l'exposé. Commençons par l'hémolyse. Un sérum, qu'il soit normal, ou obtenu par immunisation, peut être doué du pouvoir sensibilisateur à l'égard de globules et par conséquent provoquer l'absorption d'alexine, mais en tant que sérum, il produit un effet opposé qui contrarie cette fixation. Ces deux

1. Il n'y a pas lieu de s'étonner dès lors que, dans les expériences de M. Moreschi (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1906, p. 1244), la méthode n'ait pu mettre en évidence le pouvoir sensibilisateur dans le sérum d'un homme qui, dix jours auparavant, avait reçu une seule injection de bacilles typhiques tués.

2. *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1905, n° 1 et n° 29. — *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd XLI, 1906.

3. *Deutsche medicin. Wochenschrift*, 1905, n° 18. — *Centralbl. für Bakter.* Bd XL, 1906.

influences contraires se combattent, et le pouvoir antagoniste apparaîtra d'autant plus manifeste que le sérum sensibilise plus faiblement. Si tel est le cas, l'hémolyse pourra faire défaut, et tout se passera par suite comme si le sérum ne contenait réellement aucune trace de sensibilisatrice. Ainsi l'on admet généralement que le sérum de lapin neuf 56° ne sensibilise nullement les globules de bœuf; en effet si l'on mélange des hématies de bœuf (0,05 c. c.), du sérum 56° de lapin (0,5 c. c.) et un peu d'alexine de cobaye(0,1 c. c.), ces globules restent intacts. Mais on peut mettre les globules tout d'abord en contact avec le sérum de lapin, centrifuger ensuite après un certain temps, décanter le liquide surnageant, le remplacer par une quantité équivalente de solution physiologique et seulement alors ajouter l'alexine [1] : on constate ainsi l'apparition d'une hémolyse un peu lente mais complète. Donc le sérum de lapin est sensibilisateur pour les globules de bœuf, faiblement, il est vrai.

Inversement, lorsqu'on choisit des globules que le sérum sensibilise fortement, c'est, ainsi que M. Sachs l'a signalé (et comme l'ont également vu MM. Pfeiffer et Friedberger pour les microbes et la bactériolyse) le pouvoir antagoniste qui risque de passer inaperçu. Par exemple, le sérum de lapin neuf sensibilise fortement les globules de chèvre. Mélangeons 0,6 c. c. de sérum de lapin (préalablement chauffé à 56°) à 0,2 c. c. de solution physiologique contenant 25 0/0 de sang de chèvre lavé. Au bout d'une demi-heure de contact, ajoutons 0,05 c. c. de sérum frais de cobaye (alexine). L'hémolyse est presque complète après une heure et demie de séjour à l'étuve, tandis qu'elle est nulle dans un mélange analogue, mais contenant 0,6 c. c. de solution physiologique au lieu de sérum de lapin.

C'est donc le pouvoir antagoniste qui cette fois est masqué, mais il n'en agit pas moins. Sans pouvoir supprimer l'hémolyse, il la retarde beaucoup : Mélangeons, aux mêmes doses que précédemment, le sang de chèvre et le sérum de lapin ; au bout d'une demi-heure de contact, centrifugeons, décantons le liquide surnageant, remplaçons-le par 0,8 c. c. de solution physiologique et ajoutons l'alexine. L'hémolyse se produit cette fois beaucoup plus vite, elle est complète au bout de 15 à

1. L'expérience comporte bien entendu un témoin contenant des globules qui n'ont pas subi le contact du sérum de lapin, auxquels on ajoute de la solution physiologique et de l'alexine de cobaye. L'hémolyse n'apparaît pas.

20 minutes. En éloignant le sérum, nous avons éliminé le pouvoir antagoniste et l'hémolyse s'en trouve considérablement accélérée. Remarquons-le immédiatement, cette expérience montre que le pouvoir antagoniste contrarie une hémolyse dans laquelle intervient une sensibilisatrice normale[1].

Tandis que dans le mélange : globules de bœuf, sérum de lapin neuf 56° et alexine de cobaye, le pouvoir antagoniste ne permet pas à l'hémolyse d'apparaître, et cela parce que le sérum de lapin n'impressionne que faiblement ces hématies, l'hémolyse s'opère lorsqu'on remplace celles-ci par des globules de chèvre, que le sérum de lapin sensibilise plus énergiquement. Nous venons de le voir, le pouvoir antagoniste en ce cas, retarde simplement l'hémolyse : encore faut-il, pour mettre ce retard en relief, réaliser l'expérience ci-dessus indiquée. Mais il est un autre moyen de constater son influence : c'est celui auquel MM. Pfeiffer et Friedberger, M. Sachs, ont eu recours. Il consiste à éliminer l'influence opposée au pouvoir antagoniste (et qui dans le cas de globules de chèvre est prédominante au point de masquer ce dernier), c'est-à-dire celle de la sensibilisatrice. Si l'on traite du sérum de lapin 56° par une quantité suffisante de globules de chèvre, on obtient après centrifugation un liquide qui n'est plus sensibilisateur, mais qui, ayant conservé son pouvoir antagoniste, pourra préserver de l'hémolyse des globules de chèvre additionnés d'un peu d'alexine et qui ont été sensibilisés par une quantité pas trop forte de sérum (chauffé à 56°) d'animal immunisé contre le sang de chèvre.

Si la dose de sensibilisatrice est trop forte (que cette substance provienne d'un immunsérum spécifique ou simplement de sérum normal) le pouvoir antagoniste sera vaincu, et l'hé-

1. L'effet antagoniste est même si réel que des globules de chèvre faiblement sensibilisés (par une petite dose de sérum de lapin neuf) et qui ensuite sont plongés dans la solution physiologique, s'hémolysent plus vite que des globules semblables sensibilisés par une dose double de sérum de lapin, mais qu'on maintient dans ce liquide, l'alexine étant bien entendu ajoutée en même dose dans les deux cas. Par exemple versons dans 4 tubes 0,05 c. c. de sang de chèvre lavé, ajoutons à A et B 0,4 c. c., à C et D 0,2 c. c. de sérum normal 56° de lapin. Au bout de deux heures de contact, centrifugeons A et C, décantons les liquides surnageants, et versons sur les sédiments de globules, en A 0,4 c. c. en C 0,2 c. c. de solution physiologique. Ajoutons alors aux 4 tubes 0,1 c. c. d'alexine de cobaye. L'hémolyse est totale en A au bout de 15 minutes, en C en une demi-heure, en B en 50 minutes, en D en un peu us d'une heure.

molyse se fera. La provenance de la sensibilisatrice est indifférente, c'est son énergie qui importe.

On le conçoit d'ailleurs ; ce n'est pas la sensibilisatrice elle-même qui directement s'unit à l'alexine. C'est le globule sensibilisé qui absorbe l'alexine et l'absorbe d'autant mieux qu'il est plus fortement sensibilisé. En s'unissant au globule, la sensibilisatrice en modifie les propriétés d'adhésion moléculaire : elle y crée l'avidité pour l'alexine, de même qu'en s'unissant aux microbes, les agglutinines y créent la sensibilité à l'influence agglomérante des électrolytes.

Ce qui intervient, ce n'est donc pas la nature propre de la sensibilisatrice en cause, c'est l'effet qu'elle produit.

Telle n'est pas l'opinion de M. Sachs, d'après qui le pouvoir antagoniste s'oppose à l'hémolyse quand il s'agit d'une sensibilisatrice spécifique d'immunsérum, et non lorsqu'on fait intervenir une sensibilisatrice normale, celle du sérum de lapin neuf.

Conciliant ces vues avec la théorie d'Ehrlich, M. Sachs admet que les sensibilisatrices normales possèdent un groupement complémentophile très avide d'alexine (complément), plus avide même que ne l'est le groupement correspondant d'une sensibilisatrice d'immunsérum. Impressionné par une sensibilisatrice normale, le globule pourra donc fixer aisément l'alexine, même en présence d'un excès de sérum neuf. Mais, étant donné que tout sérum neuf renferme diverses sensibilisatrices normales (M. Ehrlich et ses élèves supposent même que ces anticorps normaux sont très nombreux), celles-ci s'empareront de l'alexine présente, et, en raison de leur affinité supérieure pour cette matière, n'en permettront pas la fixation sur les hématies, lorsque celles-ci sont impressionnées par une sensibilisatrice d'immunsérum.

Telle serait la raison du pouvoir antagoniste : il serait dû à la présence dans le sérum de certaines sensibilisatrices normales qui ne peuvent s'unir au globule en expérience, mais qui s'approprient le complément.

Cette théorie ne se concilie guère avec le fait qu'il suffit, pour atténuer beaucoup les effets du sérum antagoniste, d'y ajouter de la solution physiologique. Mais le point de départ de l'hypothèse est inexact ; le pouvoir antagoniste s'exerce quand

on emploie une sensibilisatrice normale ; nous l'avons vu plus haut et l'expérience suivante le confirme :

Elle comprend deux séries de mélanges préparés en même temps. La première série comporte huit tubes contenant chacun 1 c. c. d'une suspension à 5 0/0, dans la solution physiologique, de sang de chèvre lavé. On ajoute à quatre de ces tubes de la sensibilisatrice normale, c'est-à-dire du sérum 56° de lapin neuf, à doses variables (0,4 — 0,2 — 0,1 — 0,05 c. c.) ; aux quatre autres, du sérum spécifique (chauffé à 56°) de lapin immunisé contre le sang de chèvre, à doses variables également (1/100, 1/200, 1/300, 1/400 de c. c.).

Au bout d'une heure de contact, on remplit les tubes de solution physiologique, on centrifuge, on décante, on verse sur les sédiments de globules 0,6 c. c. de solution physiologique, et l'on ajoute à chaque tube 0,05 c. c. de sérum frais de cobaye (alexine).

La seconde série de mélanges est préparée comme la précédente, sauf qu'après sensibilisation, centrifugation et décantation, on verse sur les sédiments de globules 0,1 c. c. de solution physiologique (on délaie par agitation les globules dans cette petite quantité de liquide), puis 0,5 c. c. de sérum 56° de lapin qu'on a au préalable dépouillé de sensibilisatrice par contact avec des globules de chèvre [1]. On ajoute alors l'alexine comme on l'a fait pour la première série.

On prépare aussi quelques mélanges semblables, sauf qu'on n'ajoute pas de sérum sensibilisateur ; ces mélanges servent de témoins, montrant que les sensibilisatrices de lapin sont nécessaires à l'hémolyse.

On note les temps au bout desquels l'hémolyse se produit à 35°. Les chiffres indiquent les nombres de minutes après lesquels l'hémolyse est absolument complète. Les lettres F, L, I signifient qu'au bout de plusieurs heures, l'hémolyse est très forte sans être absolument complète (F), légère (L), ou que les globules sont intacts (I).

1. On centrifuge 5 c. c. de sang de chèvre lavé et on verse sur le sédiment de globules 5 c. c. de sérum de lapin 56°. Après quelques heures de contact, on centrifuge et décante le liquide surnageant.

APPARITION DE L'HÉMOLYSE.

LES GLOBULES SE TROUVENT DANS :	LES GLOBULES ONT ÉTÉ SENSIBILISÉS AU PRÉALABLE PAR Immunsérum à dose de :				Sérum neuf à dose de :				GLOBULES NON SENSIBILISÉS
	1/400	1/300	1/200	1/100 c. c.	1/20	1/10	2/10	4/10 c. c	
0.6 c. c. solut. physiol. + 0 05 alexine.	32	20	15	7	100	25	15	10	I
0.1 c. c. solut. physiol. + 0.5 c. c. sérum lapin privé de sensibilisatrice + 0.05 alexine.	L	L	F	120	I	L	F	F	I

On le voit, les mélanges qui renferment de la solution physiologique et point de sérum antagoniste permettent d'évaluer exactement, et d'une manière comparative, l'énergie de chacune des sensibilisatrices ; on constate par exemple que 1/200 de c. c. d'immunsérum impressionne les globules comme le fait une dose assez forte (0,2 c. c.) de sérum de lapin neuf, que 1/100 de c. c. d'immunsérum sensibilise un peu plus fortement que 0,4 c. c. de sérum normal, etc. Et l'on remarque que le sérum antagoniste (dépouillé de sa sensibilisatrice propre) retarde l'hémolyse très approximativement de même, dans les mélanges où les globules sont sensibilisés avec la même énergie soit par le sérum neuf, soit par l'immunsérum.

Antérieurement à M. Sachs, MM. Pfeiffer et Friedberger se sont occupés de l'influence antagoniste qu'exerce le sérum normal à l'égard de la bactériolyse du vibrion cholérique. Pour éliminer la sensibilisatrice, qui agit assez nettement sur les vibrions, ces savants traitent au préalable le sérum par une quantité suffisante de ces microbes, centrifugent et décantent : le liquide surnageant, additionné de vibrions sensibilisés par une dose modérée d'immunsérum anticholérique, et injecté dans le péritoine d'un animal neuf, s'oppose à la bactériolyse.

MM. Pfeiffer et Friedberger ont vu d'ailleurs que le pouvoir antagoniste exige, pour se manifester, que les vibrions ne soient pas soumis à une sensibilisation trop forte. Ils ont étudié avec beaucoup d'exactitude les conditions du phénomène, et se montrent réservés quant à l'interprétation.

Les constatations de M. Sachs relatives à l'hémolyse sont tout à fait parallèles à celles de MM. Pfeiffer et Friedberger. Il

n'est pas douteux que l'explication ne soit la même, et qu'à propos de la bactériolyse intervienne encore ce pouvoir, que possèdent certains constituants du sérum, de contrarier la fixation de l'alexine sur les éléments sensibilisés, cette absorption se réalisant au contraire fort bien en présence de la solution physiologique.

Une objection toutefois se présente : lorsqu'on injecte dans la cavité péritonéale des vibrions faiblement sensibilisés, la bactériolyse apparaît ou fait défaut, suivant que les microbes ont été ou non additionnés au préalable de sérum antagoniste.

Mais pourquoi ce sérum est-il nécessaire à la protection des vibrions? La cavité ne renferme-t-elle pas une certaine quantité d'exsudat dont les propriétés se rapprochent plutôt (on peut le présumer) de celles du sérum antagoniste que de celles de la solution physiologique? Pourquoi, dès lors, cet exsudat ne s'oppose-t-il pas lui-même à la bactériolyse?

L'expérience montre, en réponse à cette question, que, même lorsqu'il a été chauffé, l'exsudat péritonéal ne manifeste à l'égard de l'hémolyse [1], aucune propriété antagoniste et se comporte à très peu près comme la solution physiologique.

Par ponction de la cavité péritonéale d'un lapin, on se procure un peu d'exsudat limpide que l'on chauffe à 56° en même temps que du sérum du même animal.

On répartit dans des tubes 0,05 c. c. de sang de bœuf médiocrement sensibilisé (par du sérum de lapin anti-bœuf), on ajoute des volumes égaux (0,3 c. c.), soit de solution physiologique, soit de sérum normal, soit d'exsudat péritonéal ; on introduit ensuite dans les divers mélanges 0,05 de sérum frais de cobaye.

On constate que l'hémolyse apparaît rapidement en présence de la solution salée, presque aussi vite dans le mélange renfermant l'exsudat, qu'elle est fort retardée dans le tube qui contient le sérum normal.

L'exsudat est donc très favorable à la manifestation du pouvoir alexique. Il y a treize ans, lorsqu'un des auteurs du présent mémoire a fait connaître l'expérience de « réactivation » du cholérasérum chauffé, par le sérum neuf frais, et a établi

1. Il nous paraît qu'en raison des analogies si étroites qui unissent l'hémolyse et la bactériolyse, on peut conclure de l'une à l'autre.

ainsi la notion que la bactériolyse est due à la collaboration de l'anticorps spécifique et de l'alexine, il a été reconnu que le phénomène de transformation du vibrion en granules, indice du pouvoir bactéricide, se produisait dans le péritoine plus rapidement en général qu'*in vitro* dans les mélanges de sérum.

On en conçoit la raison : *in vitro*, le pouvoir antagoniste du sérum chauffé intervenait dans une certaine mesure pour retarder quelque peu la bactériolyse.

Il est certain que l'existence dans le sérum du pouvoir antagoniste a dû intervenir, à titre de cause d'erreur, dans diverses expériences, dans celles notamment qui sont basées sur le principe de l'absorption spécifique et qui ont trait à la multiplicité des substances actives d'un même sérum ; nous en avons vu des exemples à propos de la question de l'unité ou de la pluralité de l'alexine.

Etude de quelques modes de neutralisation des toxines bactériennes.

Par M. TIFFENEAU et A. MARIE.

II

Nos recherches antérieures (1) ont établi que le pouvoir neutralisant[1] exercé sur la toxine tétanique par la substance cérébrale, relève de l'action d'un ou de plusieurs de ses constituants *albuminoïdes*.

Ceux-ci, avons-nous vu, sont susceptibles de perdre leurs propriétés neutralisantes, soit par dessiccation (2), soit par chauffage à l'ébullition (3), ou même simplement à une température de 56°(1). Pour ce qui est de l'action des dissolvants, on sait que la substance neutralisante n'est soluble ni dans l'eau ni dans les solutions faibles de NaCl (4); d'autre part, les solvants organiques tels que l'éther ordinaire provoquent, comme la dessiccation ou la chaleur, une destruction de ses propriétés caractéristiques. Rappelons enfin qu'un ferment protéohydrolytique comme la *papaïne* est susceptible d'annihiler, partiellement au moins, les effets de la substance neutralisante.

Ces caractères s'accordent suffisamment pour conclure à la nature albuminoïdique de cette substance ; toutefois, pour que la démonstration en fût complète, il faudrait l'isoler, or tous nos essais dans cette direction, ont été jusqu'ici infructueux.

Dans la première partie de ce travail, nous exposerons quelques-unes de ces tentatives et nous préciserons diverses conditions qui favorisent la destruction du principe neutralisant.

1. Rappelons encore une fois la distinction qu'il y a lieu d'établir entre pouvoir *neutralisant* et pouvoir *fixateur* de la substance cérébrale : la toxine neutralisée par le cerveau est inoffensive pour l'organisme, tandis que la toxine simplement fixée a conservé une grande partie de son activité.

A côté de cette substance très instable qui, d'après Morax et Marie, représente 97 0/0 du pouvoir neutralisant de la matière cérébrale, il existe, pour les mêmes auteurs, un autre principe constituant, *thermostabile*, dont l'action neutralisante vis-à-vis de la toxine tétanique représente les 3 0/0 restants. Nous avons examiné dans une seconde partie les divers constituants stables du cerveau (protagon, céphaline, lécithine, névrine) et nous pensons que c'est à la première de ces substances qu'il faut attribuer cette action résiduelle de 3 0/0.

Enfin l'étude de ces neutralisations nous a conduits à envisager, dans une troisième partie, l'action des acides et des bases et à montrer que s'ils se comportent le plus souvent vis-à-vis de la toxine tétanique comme des agents destructeurs, on peut, dans certains cas, observer de véritables phénomènes de neutralisation analogues à ceux signalés par Roux et Yersin (12) et par Doerr (4) dans l'action des acides sur la toxine diphtérique.

I

PROPRIÉTÉS ET ESSAIS D'ISOLEMENT DE LA SUBSTANCE NEUTRALISANTE

Dans les nombreux essais que nous avons entrepris en vue d'isoler, parmi les constituants du cerveau, la substance à laquelle celui-ci doit les 97 0/0 de son pouvoir neutralisant, nous avons mis en jeu à la fois des méthodes physiques (solvants appropriés) et des méthodes chimiques (action des agents alcalins); les unes et les autres se sont montrées inefficaces.

Lorsqu'on traite une bouillie fine de matière cérébrale par la soude diluée, à des concentrations variées et voisines de 1 pour 500, on obtient des solutions plus ou moins mucilagineuses susceptibles d'être filtrées et lavées avec des solvants organiques. Or, les solutions aqueuses ainsi obtenues régénèrent, par acidulation, un précipité qui ne possède plus aucune des propriétés neutralisantes de la matière cérébrale.

Étant donnée la nature présumée albuminoïdique de la substance que nous cherchions à isoler, il y avait lieu d'essayer l'action des solutions salines concentrées, qui dissolvent certaines matières albuminoïdes. Des recherches infructueuses avaient déjà été faites dans cette direction par Asakawa (5), qui avait

constaté que les solutions diluées de chlorure de sodium, glycérinées ou non, sont inaptes à dissoudre le principe neutralisant. Nous avons entrepris des expériences analogues en employant des solutions plus concentrées.

On réduit la substance cérébrale en pulpe très fine et on y ajoute peu à peu des solutions de NaCl dont la concentration varie de 5 à 10 0/0 ; la masse devient d'abord gélatineuse, puis se gonfle et se divise peu à peu ; on maintient ou non quelque temps à l'étuve à 37° et l'on sépare alors le liquide par centrifugation ; celui-ci est soumis à la dialyse et l'on examine à la fois le liquide contenu dans le sac dialyseur et le précipité qui s'y est formé ; aucun de ces produits ne s'est montré capable de neutraliser la toxine tétanique.

Avec les solvants organiques, les résultats sont identiques ; nous avons déjà constaté dans notre précédent mémoire et Landsteiner et Eisler (6) l'avaient également observé avant nous, que le cerveau traité par l'éther perd son action neutralisante. Nous avons renouvelé encore nos expériences sur ce point mais d'une façon plus suggestive.

Un gramme de cerveau de cobaye est broyé pendant quelques minutes avec de l'éther aqueux (éther lavé à l'eau) ; puis sans rien séparer, on laisse l'éther s'évaporer de lui-même à la température de la glacière ; avec le résidu, contenant à la fois les produits solubles et insolubles, on fait une émulsion aqueuse très fine qu'on soumet quelque temps à l'action du vide pour enlever les dernières traces d'éther ; on ajoute alors huit doses mortelles de toxine tétanique ; la même quantité de toxine a été d'autre part émulsionnée avec seulement 0,50 du même cerveau non traité à l'éther et on a maintenu les deux mélanges 12 heures à la glacière avant de les injecter à deux souris.

Action de l'éther sur le pouvoir neutralisant du cerveau.

30 MAI		31	1	2	3	4	5	6	
Souris 1.	1 gr. cerveau traité par l'éther. + 8 doses toxine tétanique...	≡	+						
Souris 2.	0,50 cerveau non traité....... + 8 doses toxine tétanique..	0	0	0	0	—	—	—	+ le 16

On voit que 50 centigrammes de matière cérébrale ont pu neutraliser au moins 7 doses mortelles, alors qu'un gramme du même cerveau traité par l'éther ne paraît avoir neutralisé que des quantités insignifiantes de toxine. Dans d'autres essais, l'éther de pétrole s'est comporté comme l'éther ordinaire.

L'expérience inverse a été également effectuée. Un cerveau de cobaye du poids de $3^{gr},50$ est divisé en deux parties qui sont additionnées toutes deux de 10 doses mortelles de toxine tétanique; l'une est injectée telle quelle à une souris; l'autre est également inoculée, mais après traitement préalable à l'éther et évaporation de celui-ci comme dans l'expérience précédente : dans le premier cas, l'animal survit, dans le second cas il meurt au 5e jour avec un tétanos typique. L'éther a donc provoqué la dislocation de la combinaison atoxique cerveau-toxine et régénéré le poison.

Un simple traitement de la substance cérébrale à froid par l'alcool à 85° conduit à un résultat identique; $1^{gr},85$ de cerveau de cobaye traité par l'alcool, puis, centrifugé et lavé à l'eau ne neutralise même plus 5 doses mortelles de toxine tétanique; l'animal auquel on inocule le mélange meurt au 4e jour.

Il résulte de tous ces essais que la substance neutralisante est extrêmement dissociable (ou coagulable) par les solvants organiques; seule l'eau ne la détruit pas; mais elle ne possède pas davantage la propriété de la dissoudre.

II

NEUTRALISATION DE LA TOXINE TÉTANIQUE PAR LES CONSTITUANTS NON ALBUMINOÏDIQUES DU CERVEAU.

Nous avons déjà eu l'occasion, dans notre précédent mémoire, d'étudier les propriétés de certains constituants du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique; nous avons ainsi montré que la *cholestérine* et la *lécithine* ne possèdent aucune propriété neutralisante appréciable; nous avons poursuivi ces recherches avec d'autres composés.

1. *Céphaline*. Nous avons étudié, dans nos essais antérieurs, la lécithine de l'œuf qui, d'après Cousin (7), est sensiblement

identique à celle du cerveau; or on peut isoler de la matière cérébrale une lécithine de propriétés et de composition assez différentes, la *céphaline*.

Ce produit, que nous devons à l'obligeance de M. Cousin, est émultionné à la dose de 0,50 dans 1 c. c. 5 d'eau; on y ajoute dix doses mortelles de toxine tétanique et, après deux heures de contact, on en inocule le tiers à une souris, tandis qu'un animal témoin reçoit la même quantité de toxine tétanique seule (trois doses mortelles).

Action de la céphaline sur la toxine tétanique.

25 JUIN	26	27	28	29
Souris 1. Céphaline 0,15 + toxine 3 doses mort..	=	≡	≡	+
Souris 2. Toxine tétanique 3 doses mortelles.....	=	≡	≡	+

La céphaline est donc dépourvue de toute action neutralisante vis-à-vis de la toxine tétanique.

2. *Choline et névrine.* La choline et la névrine n'existent vraisemblablement pas à l'état libre dans la matière cérébrale. La première ne s'y trouve que sous forme de combinaison [1], en faisant partie de la molécule de lécithine et de céphaline qui sont dépourvues, comme nous venons de le voir, de toute action neutralisante. Quant à la névrine, elle paraît se former seulement par autolyse du cerveau; or l'on sait, d'après Wolff Eisner et Rosenbaum (8), que ce phénomème fait perdre à la matière cérébrale ses propriétés neutralisantes. Il était donc à supposer que choline et névrine ne posséderaient aucune spécificité vis-à-vis de la toxine tétanique. Néanmoins Roger et Josué ayant constaté une action neutralisante de la névrine, nous avons examiné des substances analogues et montré, dans la 3e partie

1. Il est possible qu'en dehors des licithines il existe dans le cerveau des principes constituants d'une nature différente, à base d'ammoniaque composées quaternaires ou non; nous avons constaté en effet qu'en chauffant une émulsion de cerveau à la température de 80-100°, la liqueur devient bientôt alcaline. Toutefois les divers alcalis que nous avons examinés plus loin ne possédant aucune spécificité, il n'y a pas lieu de s'arrêter sur ce point particulier.

du travail, qu'elles agissent comme alcalis et non spécifiquement.

3. *Protagon.* Les conclusions de Thudichum sur le caractère mal défini du protagon nous avaient déterminé, dans nos premiers essais, à laisser de côté cette substance ; toutefois en présence des observations contradictoires de Ignatowsky (10) qui nie les propriétés neutralisantes du protagon et celles de Landsteiner et Botteri (11) qui les déclarent réelles, nous nous sommes décidés à reprendre cette question.

Nous avons d'abord employé un protagon provenant de la maison Merck et nous avons constaté que 0,05 centigrammes de ce produit neutralisent environ *deux doses* mortelles de toxine tétanique. Comme la teneur normale du cerveau de cobaye en protagon atteint environ 10 0/0 et qu'un gramme de matière cérébrale neutralise de 15 à 20 doses mortelles de tétanotoxines, il s'ensuit que le protagon est 30 à 50 fois moins actif que la substance cérébrale d'où il provient.

Ces observations confirment celles qui ont été faites par l'un de nous en collaboration avec Morax (1), à savoir que les propriétés neutralisantes du cerveau sont attribuables, pour la majeure partie (97 0/0), à une substance instable perdant ses propriétés par la dessiccation, tandis qu'une autre substance thermostabile représente seulement 3 0/0 du pouvoir neutralisant total et se trouve par conséquent 33 fois moins active que le cerveau entier.

Les essais que nous avons effectués avec le protagon Merck ont été répétés et confirmés avec un protagon brut provenant de substance cérébrale que nous avons soumise nous-mêmes à l'extraction par l'alcool à 85°, à la température de 45°.

Comme pour le mélange neutre cerveau-toxine, nous avons cherché à savoir si, dans la combinaison atoxique protagon-toxine, le poison pouvait être régénéré ; jusqu'ici nous n'y sommes point encore parvenus, de telle sorte qu'on pourrait conclure dès maintenant que *dans l'action du protagon, il y aurait vraisemblablement destruction, tandis qu'avec les substances albuminoïdes du cerveau il se produirait une véritable neutralisation.*

Toutefois il resterait encore à déterminer si, dans tous ces phénomènes, il s'agit bien de réactions neutralisantes, ou des-

tructrices accomplies *in vitro* avant l'inoculation aux animaux, ou plus simplement de propriétés particulières de l'organisme des animaux inoculés qui réagiraient différemment suivant la nature du mélange injecté, soit en empêchant l'adsorption des particules solides, soit en en facilitant la phagocytose.

Cette question est trop délicate et complexe à la fois pour pouvoir être traitée ici ; mais il nous a néanmoins paru nécessaire de la poser pour mettre en garde contre toute interprétation trop hâtive des divers phénomènes de neutralisation de la toxine tétanique.

III

ACTION DES ACIDES ET DES BASES SUR LA TOXINE TÉTANIQUE.

§ 1. *Acides.*

La sensibilité des toxines aux acides est un fait bien connu. Déjà en 1889, Roux et Yersin avaient montré que la toxine diphtérique devient inactive lorsqu'on la traite par l'acide lactique ou nitrique jusqu'à réaction franchement acide ; ces auteurs ont même été plus loin, en constatant que, si on neutralise exactement la liqueur ainsi rendue inactive par acidulation, la toxine recouvre une partie de son activité ; il s'agit donc dans ce cas d'une véritable neutralisation, au moins partielle, et non d'une destruction.

C'est ce qui a été observé récemment et généralisé par Doerr non seulement avec un acide organique comme celui employé par Roux et Yersin, mais encore avec divers acides minéraux dilués. Toutefois, Doerr a constaté que les diverses toxines réagissent de deux façons différentes : les unes se comportent comme la toxine diphtérique dans les expériences de Roux et Yersin, en formant des combinaisons capables de redevenir toxiques après neutralisation exacte de l'acide employé; les autres, comme la toxine tétanique, sont définitivement détruites, de sorte que le produit ainsi devenu inactif ne peut plus recouvrer son activité primitive. Enfin Doerr a montré que l'action des acides est fonction du temps ; il a

même pu observer que les combinaisons atoxiques du premier groupe ne sont plus aptes à recouvrer leur toxicité lorsque le contact avec l'acide a été prolongé au-delà d'un certain temps; la neutralisation initiale a donc été suivie d'une destruction progressive.

Au cours de recherches entreprises pour vérifier la spécificité de l'action neutralisante exercée par la névrine et par le chlorhydrate de bétaïne sur la toxine tétanique (Roger et Josué) (13), nous avons été amenés à examiner l'action des acides et des bases sur ce poison; on sait, en effet, que la névrine est une *base* fort analogue à la potasse et la soude; d'autre part, une solution aqueuse de chlorhydrate de bétaïne est continuellement dissociée en bétaïne et acide chlorhydrique libre.

Chlorhydrate de bétaïne. — Les expériences suivantes montrent précisément que la bétaïne, obtenue en saturant exactement du chlorhydrate de bétaïne par la soude diluée, ne neutralise plus la toxine tétanique.

D'une même solution de chlorhydrate de bétaïne, on fait deux parts : celles-ci sont additionnées de la même quantité de toxine tétanique, l'une directement, l'autre après saturation préalable de l'acidité par la soude diluée; l'inoculation à des souris montre que le premier mélange s'est comporté comme atoxique, tandis que dans le second la toxine introduite a conservé toute son activité.

Action de la bétaïne et de son chlorhydrate sur la toxine.

27 AVRIL	28	29	30	1	2
Souris 1. Chlorhydrate de bétaïne + toxine 20 doses.	0	0	0	0	0
Souris 2. Bétaïne libre + toxine 20 doses....	≡	+			

C'est surtout à partir d'une teneur en HCl égale à $\frac{N}{5}$ HCl, que se manifeste l'action empêchante du chlorhydrate de bétaïne sur la toxine tétanique; pour des dilutions plus grandes, cette action devient nulle ou irrégulière; toutefois, comme pour HCl dans les expériences de Doerr, cette action croît avec le temps.

Les essais entrepris en vue de déterminer s'il s'agit, dans ce

phénomène, d'une action destructrice ou neutralisante nous ont donné des résultats très irréguliers. En général, après un contact de 2 à 5 minutes avec une solution de chlorhydrate de bétaïne dont l'acidité est environ $\frac{N}{5}$ HCl, la toxine tétanique peut être partiellement régénérée lorsqu'on sature l'acidité par la soude ou l'ammoniaque diluées.

Régénération de la toxine dans un mélange atoxique HCl bétaïne + toxine.

I

2 MAI		3	4	5	6	7	8
Souris 1.	Toxine tétanique 20 doses + 0 c.c. 20 HCl bétaïne $\frac{N}{5}$ HCl.	0	0	0	0	0	0
Souris 2.	Toxine tétanique, etc.; 5 minutes de contact puis saturation exacte par soude.	—	=	≡	≡	≡	+

II

6 MAI	7	8	9	10	11	12	13	14	5
Souris 1. Toxine 100 doses + HCl bétaïne $\frac{N}{5}$ 2'.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Toxine 100 doses, etc.; 2' + Soude.	0	=	=	=	=	=	=	=	=
Souris 3. Tox. 100 doses, etc.; 2' + Ammoniaq.	—	=	=	≡	≡	≡	≡	≣	≣

Quelles que soient les doses de toxine employées, 20, 30, 100 doses mortelles, on voit que la partie régénérée paraît être la même dans tous les cas et représenter à peine *une dose mortelle*. En dépit de nombreuses expériences sur ce point particulier, les résultats partiellement irréguliers que nous avons obtenus ne nous ont pas encore permis de nous expliquer ce phénomène.

Acide chlorhydrique. — Pour plus irréguliers qu'ils soient

encore, les résultats obtenus avec HCl sont tout à fait analogues; toutefois l'action empêchante de cet acide exige toujours un certains temps de contact avec la toxine; il semble qu'une fois le mélange HCl + toxine injecté au moment même de sa préparation, l'organisme de l'animal inoculé neutralise ou dilue l'acide avant que celui-ci ait pu exercer sur la toxine son action empêchante.

Avec des dilutions HCl $\frac{N}{2}$ à HCl $\frac{N}{10}$, un contact à froid de 5 à 10 minutes est nécessaire pour rendre le mélange atoxique, alors qu'avec le chlorhydrate de bétaïne, pour une acidité égale à HCl $\frac{N}{5}$, un contact moins prolongé nous a toujours paru suffisant.

Avec les concentrations HCl $\frac{N}{2}$ et HCl $\frac{N}{5}$, la destruction de la toxine tétanique est toujours à peu près complète en 10 ou 15 minutes, et l'inoculation de plusieurs doses mortelles ainsi traitées ne produit aucune raideur tétanique; avec des dilutions HCl $\frac{N}{10}$, il y a destruction en 15 minutes de plus de 50 0/0 de la toxine, de sorte que les animaux supportent sans réaction l'inoculation de deux doses mortelles; enfin, avec des dilutions plus étendues HCl $\frac{N}{15}$ et HCl $\frac{N}{20}$, on constate que, pour un même laps de temps, la destruction ou la neutralisation n'atteint pas 50 0/0.

Dans tous ces essais, les inoculations ont été faites le plus souvent sous la peau des souris, mais on a pu observer semblable innocuité en injectant jusqu'à 100 doses mortelles dans le cerveau d'un cobaye, ou encore en inoculant jusqu'à 10 c. c. de toxine tétanique dans la veine d'un lapin.

Pour décider si la toxine ainsi annihilée plus ou moins complètement par l'action de HCl est *détruite* ou *neutralisée*, nous avons, comme pour le chlorhydrate de bétaïne et après des temps de contact très variables, saturé exactement l'acidité des mélanges. Tandis que la toxine acidifiée s'est toujours comportée comme atoxique, le même produit saturé par la soude s'est montré souvent d'une toxicité manifeste dont voici un exemple.

Regénération du poison dans un mélange toxine + HCl.

31 JANVIER	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Souris 1. Toxine 2 doses + HCl $\frac{N}{10}$ 30′ de contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Toxine 2 doses + HCl $\frac{N}{10}$ 15′ + soude	0	=	≡	≡	≡	≡	—	≡	≡	≡
Souris 3. Toxine 2 doses + HCl $\frac{N}{10}$ 30′ + soude	0	—	=	=	=	=	≡	=	=	—

Toutefois, dans ces essais ainsi que dans plusieurs autres, la partie régénérée atteint rarement une dose mortelle ; on observe la raideur typique des membres, mais le plus souvent l'animal ne succombe pas.

Les mêmes expériences ont été effectuées en injectant dans le cerveau d'un cobaye le mélange atoxique HCl + toxine qui. après 15 minutes de contact, avait été saturé exactement par la soude; l'animal n'a pas eu de tétanos généralisé ; la toxine avait donc été détruite au moins en grande partie.

En résumé, si l'on ne tient pas compte du résidu toxique insignifiant qu'on retrouve, irrégulièrement du reste, après saturation des mélanges inactifs acide + toxine par un alcali dilué, soude ou ammoniaque, on voit que nos résultats confirment ceux obtenus par Doerr, à savoir qu'avec certaines toxines comme celle du tétanos, les acides n'agissent pas comme des agents neutralisants, mais provoquent la destruction de la majeure partie du poison ; cette destruction est fonction du temps et de la concentration de l'acide.

§ 2. *Acalis.*

Soude. — L'action des alcalis est en tous points comparable à celle des acides ; elle paraît toutefois plus énergique ; en effet, une dilution correspondant à $NaOH \frac{N}{20}$ suft à fiannihiler complètement les effets de la toxine tétanique, et un contact de 2 ou 3 minutes est toujours suffisant ; avec des dilutions $\frac{N}{30}$ et $\frac{N}{40}$, on ne

peut détruire, pendant le même laps de temps, que 50 0/0 de la toxine. Comme avec les acides, il s'agit bien d'une destruction, car les mélanges atoxiques NaOH + toxine ne deviennent pas actifs après acidulation exacte; avec des dilutions $\frac{N}{25}$ ou $\frac{N}{30}$ qui n'ont pas détruit complètement l'activité de la toxine, on observe toutefois que l'acidulation exacte provoque une apparition plus rapide des accidents tétaniques qu'avec le mélange alcalin.

Ammoniaque et amines. — Les bases faibles comme l'ammoniaque et les amines ne neutralisent pas les effets nocifs de la toxine tétanique.

Hydrates d'ammonium. — Les bases quaternaires (hydrates d'ammonium composés) participent des propriétés des bases fortes; comme la soude, ils annihilent les effets de la toxine tétanique; c'est ainsi que l'hydrate de tétraméthylammonium (dilution $\frac{N}{50}$) fournit avec cette toxine un mélange inactif; la choline, autre hydrate quaternaire, agit identiquement; de même, comme l'ont montré Roger et Josué (13), l'hydrate de triméthyléthylène-ammonium (névrine) donne avec la toxine tétanique des mélanges d'une parfaite innocuité pour le cobaye.

Il s'agit bien dans ces cas d'une action attribuable à la basicité de ces hydrates, puisque les chlorhydrates de ces diverses bases ne possèdent plus la même propriété neutralisante. Nous n'avons pas étudié à ce point de vue le chlorhydrate de névrine, mais nous avons examiné les sels correspondants de tétraméthylammonium et de choline, dont les bases libres s'étaient montrées, comme la névrine de Roger et Josué, particulièrement actives.

L'action de ces hydrates ne paraît pas aussi destructrice que celle de la soude, car il nous a été permis de régénérer nettement la toxine de la combinaison atoxique qu'elle avait contractée avec ces hydrates; en voici un exemple très net obtenu avec l'hydrate de tétraméthylammonium.

Régénération du poison dans un mélange toxine + hydrate quaternaire.

3 DÉCEMBRE	4	5	6	7	8	9
Souris 1. Toxine 30 doses + hydrate 10 minutes.	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Toxine 15 doses + hydrate 10′ puis HCl.	≡	+				

En résumé, les bases fortes, alcalis caustiques et hydrates quaternaires, rendent la toxine tétanique inoffensive pour les animaux; avec les alcalis fixes il y a destruction rapide de la toxine, tandis qu'avec les hydrates quaternaires on peut admettre que, partiellement au moins, il y ait neutralisation.

CONCLUSIONS

S'il ne nous a pas été donné d'isoler la substance albuminoïde qui intervient, pour les neuf dixièmes environ, dans le pouvoir neutralisant du cerveau sur la tétanotoxine, on peut déduire de nos recherches quelques-unes des propriétés de cette substance.

Elle est thermolabile et perd, dès la température de 56°, son pouvoir neutralisant ; la matière cérébrale qui a été chauffée à cette température a conservé seulement la faible action neutralisante due au protagon, substance thermostabile.

Elle ne passe pas dans les solutions alcalines ou salines (NaCl), tout au moins en conservant sa spécificité ; elle perd ses propriétés neutralisantes au contact des solvants organiques, alcool, éther, etc. La dessiccation dans le vide produisant des effets semblables, paraît donc agir de la même façon, vraisemblablement par un processus de coagulation ou de dissociation.

Vis-à-vis d'une diastase protéohydrolytique comme la papaïne, cette substance neutralisante se comporte à la façon des albuminoïdes ; on savait d'ailleurs que l'autolyse du tissu nerveux entraînait la suppression de son pouvoir neutralisant.

Son action sur la toxine tétanique nous apparaît comme une neutralisation ; on peut, en effet, du mélange neutre atoxique régénérer le poison, en faisant intervenir divers agents tels que

le vide, la papaïne ou l'éther, précisément les mêmes agents qui enlèvent à la substance cérébrale ses propriétés neutralisantes.

Ni la cholestérine, ni les lécithines (céphaline) n'ont d'action neutralisante sur la toxine. La choline et la névrine agissent comme alcalis, non spécifiquement. Les acides et les bases n'exercent pas d'action neutralisante, mais détruisent la tétanotoxine.

Paris, le 1er juillet 1908.

BIBLIOGRAPHIE

1. Marie et Tiffeneau, *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXII, p. 289-299. *C. R. Soc. Biol.*, LXII (1907), p. 1187, et LXIII (1907), p. 683.
2. Morax et Marie, *C. R. Soc. Biol.*, t. LVIII (1902).
3. Milchner, *Berl. klin. Woch.*, 1898, n° 17.
4. Doerr, *Wien. klin. Woch.* 1907, n° 1.
5. Asakawa, *Zeitsch. f. Bakt.*, 24 (1898), p. 243.
6. Landsteiner et Eisler. *Z. f. Bakt.*, 39 (1905).
7. Cousin, *Journal Pharmacie et Chimie* (1907).
8. Wolff Eisner et Rosenbaum, *Berl. kl. Woch.*, 43, 945-947.
9. Thudichum, *Die Bestandtheile des Gehirns*, Tubingen 1904.
10. Ignatowsky, *Z. f. Bakt.*, 35 (1903).
11. Landsteiner et Botteri, *Z. f. Bakt.*, 42 (1906).
12. Roux et Yersin, *Ann. Inst. Pasteur*, 3 (1889), 282.
13. Roger et Josué, *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIV (1898), 313; t. XLV (1898), 1081.

La Peste dans le département de Constantine en 1907

RECHERCHES PARTICULIÈRES SUR LES RATS, LEURS ECTOPARASITES ET LEURS RAPPORTS AVEC L'ÉPIDÉMIE

Par A. BILLET
Médecin principal de 2e classe, à l'hôpital Saint-Martin, Paris

---

La peste a fait une incursion assez sérieuse en Algérie et en Tunisie pendant les derniers mois de l'année 1907. Les ports d'Oran, Tunis, Philippeville, Bône, La Calle et Tenès ont été visités par elle à peu près à la même époque, du mois de septembre au mois de décembre.

Les recherches que M. le Ministre de la Guerre nous a donné la mission de diriger, sur la demande de M. le Gouverneur Général de l'Algérie, concernent le département de Constantine.

Les cas de peste constatés dans ce département se répartissent ainsi :

Philippeville	10 cas.
Bône	4 cas.
La Calle	1 cas.
Constantine	1 cas.

Soit en tout 16 cas, dont 15 parmi la population civile et 1 cas dans la population militaire [1].

Nous n'insisterons pas sur les particularités cliniques de ces différents cas, ni sur l'étiologie plus ou moins discutée de l'épidémie. Ce sujet a été traité longuement dans les divers rapports des médecins sanitaires des localités contaminées [2] et sera exposé dans un rapport d'ensemble par M. le Dr L. Raynaud, le distingué Directeur du service sanitaire maritime de l'Algérie.

1. Le seul cas survenu dans la population militaire à Constantine a été contracté probablement à Philippeville et doit faire l'objet d'une relation détaillée de la part de M. le médecin-major Tricot, de l'hôpital de Constantine.

2. En particulier de M. le Dr Zoeller, médecin de la Santé à Philippeville, et de M. le Dr Nicolas, à Bône. C'est, en grande partie, grâce au zèle infatigable et à la ténacité de ces dévoués praticiens, que les mesures d'isolement et de désinfection ont pu être exécutées et menées à bien.

Qu'ils nous suffise de dire que ces 16 cas ont présenté les formes suivantes :

Forme bubonique..	13 cas.
Forme pulmonaire..	2 cas.
Forme typhoïde..	1 cas.

On a constaté 5 décès : 4 de forme bubonique, 1 de forme typhoïde. La maladie s'est présentée 11 fois chez l'adulte, 5 fois chez des enfants ou adolescents de 12 à 15 ans.

Il est à remarquer que les 2 cas à forme pulmonaire se sont terminés par guérison.

I

RÉSULTATS BACTÉRIOLOGIQUES

Les examens bactériologiques des produits suspects provenant des malades ont été pratiqués, en majeure partie, au Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital militaire de Constantine.

Ils ont été conduits avec le plus grand soin et toute la compétence voulue par M. le médecin-major de 2e classe Pignet, chef du laboratoire, assisté par M. le médecin aide-major de 1re classe Rit, du 3e chasseurs [1].

D'autres examens de vérification ont eu lieu sous notre direction, en particulier à l'aide de la méthode de choix, par *inoculation cutanée*, méthode inaugurée aux Indes par Albrecht et Ghon, et qui consiste à provoquer la peste expérimentale chez le cobaye, par frottis de cultures ou d'organes suspects de renfermer le bacille de Yersin, sur une certaine étendue de surface cutanée, dénudée au rasoir.

Cette méthode a été, depuis lors, vulgarisée par l'*Advisory Committe for Plague Investigation* de Bombay, dont les recherches intéressantes font l'objet d'une publication spéciale [2].

Sur les 16 cas relatés plus haut, 8 se sont montrés positifs d'emblée, soit

1. Aux termes de l'*Instruction sur la peste*, rédigée par le Comité consultatif d'hygiène publique de France, les laboratoires de bactériologie des hôpitaux militaires d'Alger, d'Oran et de Constantine sont désignés pour procéder aux examens bactériologiques prévus par ladite Instruction, sur la demande des médecins sanitaires maritimes et des médecins de l'état civil.

2. *Journal of Hygiene*, Plague extra numbers. Vol. VI, n° 4, 1906 ; vol. VII, nos 3 et 6, 1907 ; vol. VIII, mai 1908.

à l'examen direct des produits pathologiques, soit par les cultures, soit par l'inoculation cutanée, sous-cutanée ou intra-péritonéale au cobaye. Les 8 autres cas, nettement positifs par leurs signes cliniques, se sont montrés les uns douteux, les autres complètement négatifs, le plus souvent par suite de l'insuffisance ou de l'altération des produits pathologiques envoyés au laboratoire d'expertises.

Nous avons institué une autre série d'expériences pour démontrer la virulence du bacille de Yersin, même dans le cas où il se trouve mélangé à d'autres micro-organismes septiques :

Les rates de deux cobayes morts de peste à la suite de l'inoculation *cutanée* de cultures provenant de produits pathologiques de deux malades ont été laissées à l'étuve à 37°, pendant 7 jours, afin de leur faire subir une putréfaction complète.

Des deux malades en question, tous deux à forme bubonique (indiqués sur le Plan de Philippeville (*fig.* 7) sous les n°s VII et X), le premier était mort au 7e jour, l'autre, au contraire, très légèrement atteint, s'était rétabli rapidement.

Dans l'un et l'autre cas, les cobayes inoculés par la méthode cutanée, par frottis, à l'aide des rates putréfiées, sont morts entre 6 et 8 jours après cette inoculation, avec toutes les lésions caractéristiques de la peste et constatation du bacille spécifique dans tous les organes.

Ces expériences corroborent une fois de plus l'opinion émise par l'*Advisory Committee* des Indes, à savoir que la méthode *cutanée* d'inoculation est « une excellente méthode de diagnostic, même quand les rats sont dans un état de putréfaction avancée [1] ».

Enfin, une dernière série d'expériences, concernant l'agglutination de quelques cultures de peste, ont été pratiquées à l'Institut Pasteur de Paris, sous la conduite de M. le Dr E. Dujardin-Beaumetz, le savant et aimable chef du Laboratoire de la Peste.

Dans trois cas (n°s VII, VIII et X du Plan), les cultures ont agglutiné, même à la dilution de 1/120.

II

EXAMEN DES RONGEURS CAPTURÉS

Il est démontré aujourd'hui que certains rongeurs, et en particulier les rats, jouent un des principaux rôles dans la dissémination et la propagation de la peste.

1. *Loc. cit.* Vol. VII, n° 3, juillet 1907, p. 354.

On sait que la peste est une maladie infectieuse du rat, qui peut dégénérer en épizootie, tandis qu'elle n'est qu'accidentelle chez l'homme.

La contagion se fait du rat au rat, et finalement du rat à l'homme, par l'intermédiaire de certains ectoparasites de ces rongeurs, et en particulier de certaines espèces de puces qui cohabitent à la fois sur les rats et sur l'homme. (Simond).

Telles sont les données précises et scientifiques sur lesquelles sont actuellement basées l'étiologie et l'épidémiologie de la peste.

Il était intéressant de les vérifier dans l'épidémie actuelle et notre attention a été tout naturellement attirée vers cette importante question, jusqu'ici très peu étudiée, en Algérie tout au moins.

Nous l'examinerons donc au triple point de vue :

A. *Du degré d'infection des rats par le bacille de* Yersin ;

B. *De la détermination de leurs différentes espèces ou variétés, ainsi que de leur répartition dans les quartiers des villes contaminées ;*

C. *De la détermination des diverses espèces d'ectoparasites qu'ils hébergent.*

A. DEGRÉ D'INFECTION DES RATS PAR LE BACILLE DE YERSIN.

Grâce aux mesures énergiques promulguées par le Gouverneur Général de l'Algérie [1], par le Préfet du département, ainsi que par le Général commandant la division de Constantine, la dératisation a été poursuivie très méthodiquement et très vigoureusement par le soin des municipalités intéressées et des autorités militaires, grâce également à la vigilance et à l'activité des médecins sanitaires des différents ports infestés, en particulier à Philippeville et à Bône.

Le système de primes, qui ont varié de 0 fr. 50 à 1 franc par rat capturé, s'est montré particulièrement efficace. A Phillippeville, un millier de rats ont été ainsi capturés. A Bône il en a été recueilli 500 environ, du mois d'octobre à la fin de décembre.

1. Voir à ce sujet le *Recueil des instructions et décisions du Ministère de l'Intérieur et du Gouverneur Général de l'Algérie*, à l'occasion des cas de Peste des ports algériens en 1907, publié par le service sanitaire maritime de l'Algérie et les soins de son directeur, M. le Dr L. Raynaud. Alger. 1908.

A ce chiffre il faut ajouter un nombre deux ou trois fois plus élevé de rats qui ont été tués par divers procédés, tels que la sulfuration, la chloruration, l'asphyxie par l'acide carbonique, l'empoisonnement par diverses substances toxiques mélangées à des aliments, etc...

A *Philippeville*, sur les 1,000 rats capturés, **500** environ (**442** exactement) ont pu être examinés.

Jusqu'à notre arrivée à Philippeville, c'est-à-dire du 20 octobre au 5 décembre, **198** rats ont été examinés par MM. Pignet et Rit, à l'aide du prélèvement des rates et la constatation par l'examen direct de leur degré d'infection.

Ce système, qui est en définitive suffisant, puisque le bacille de Yersin a son élection principale dans la rate, présente toutefois l'inconvénient de ne pas donner de renseignements sur le degré d'infection des autres organes ni sur l'espèce de rat infecté et la nature de ses ectoparasites; d'autant plus que les rats, par mesure de précaution obligatoire et nécessaire, étaient ébouillantés, ou même grillés par un flambage préalable.

Dès notre arrivée à Philippeville, grâce à l'empressement de M. le Dr Zoeller, médecin sanitaire, et de M. Maigre, capitaine du port, et j'ajouterai de M. Blanchet, vice-président de la Chambre de commerce, il nous a été possible d'installer, en quelques jours, un laboratoire de recherches très suffisant dans les locaux de la capitainerie du port. Cette installation, réalisée à l'aide des crédits libéralement accordés par M. le Gouverneur Général, sera conservée et pourra, si malheureusement la nécessité l'exige, être immédiatement prête pour de nouvelles recherches de ce genre, et peut dès maintenant porter le nom d'Annexe du laboratoire officiel de l'hôpital militaire de Constantine [1].

Enfin nous avons pu obtenir qu'on apportât des rats vivants au laboratoire.

Afin d'éviter tout risque de contamination et de contagion, les rats, aussitôt capturés dans des ratières, étaient placés, avec toutes les précautions d'usage, dans des bocaux de verre hermétiquement fermés et contenus dans une boîte spéciale à compartiments, également fermée. Ils étaient ensuite chloroformisés. Il a été ainsi loisible d'étudier à la fois les rats capturés, l'intensité de leur infection et enfin leurs ectoparasites, sans crainte, nous le répétons, de toute espèce d'infection ou de contagion.

1. Des installations analogues pourraient être préparées dès maintenant et à peu de frais au siège des divers services sanitaires maritimes des autres ports.

A *Bône*, un laboratoire identique avait été installé par les soins de M. le Dr Soulié, de l'Institut Pasteur d'Alger, dans un local de l'hôpital militaire.

Nos recherches particulières, à Philippeville, ont porté sur un total de **231** rats, ainsi capturés du 6 au 18 décembre.

Le résultat général des expertises pratiquées du 20 octobre au 31 décembre, au point de vue de l'infection des rats par le bacille de Yersin, a été de 16 *résultats positifs*. A partir du 5 décembre les résultats ont été négatifs, à part quelques cas douteux dont les cultures et les inoculations n'ont pas donné de résultat positif bien appréciable.

On arrive ainsi à une proportion de **3,6** % de rats pesteux sur l'ensemble des rats examinés.

Or, cette proportion est certainement inférieure à la vérité.

Nous avons pu, en effet, à l'examen de préparations conservées par M. Pignet, retrouver un certain nombre de cas très suspects, soit **9** en tout. Nous en avons, pour notre part, signalé **5** qui nous ont paru très douteux. Enfin, du 23 au 31 décembre, **4** nouvelles rates adressées par M. le Dr Zoeller, ont donné des résultats égalements suspects, et par l'examen direct et par les cultures.

Il y a donc lieu d'ajouter au total général **18** nouveaux cas qui peuvent être considérés comme très sujets à caution,

La proportion des rats pesteux s'élèverait, dans ce cas, à **8,1 0/0**, proportion que l'on a retrouvée dans les épidémies de peste les plus graves, aux Indes par exemple.

Enfin si on tient compte que : **1**° tous les rats capturés n'ont pas été examinés; **2**° que, pendant plusieurs jours de la période la plus intéressante, du 20 au 24 novembre, il n'y a pas eu d'examens pratiqués; **3**° qu'un grand nombre de rats étaient à ce point grillés par le flambage que leur rates n'ont pu donner à l'examen direct et surtout en cultures que des résultats négatifs, on peut admettre, comme nous le disions, que la proportion des rats infectés a été au-dessous de la réalité.

Quant à l'emplacement et à la répartition des **16** rats nettement pesteux trouvés à Philippeville, il est facile de s'en rendre compte sur le plan annexe où ils sont indiqués, en chiffres arabes. (Voir *fig.* 7.)

Nous reviendrons d'ailleurs plus loin sur cette localisation si intéressante des rats pesteux de cette ville, par rapport aux cas de peste constatés chez l'habitant.

Mais, dès maintenant, il est aisé de saisir les rapports frap-

pants qui existent entre eux, groupés au même voisinage des uns et des autres.

On remarquera surtout le principal foyer localisé autour du magasin de grains et de farines marqué *E* sur le plan dont le dock est situé en *D* sur les quais.

A *Bône*, sur les **500** rats examinés, soit par M. Soulié, soit par M. Pignet ou par nous-même, aucun n'a été reconnu *pesteux*.

Maladies infectieuses diverses du rat pouvant être confondues avec la peste.

Au cours des recherches poursuivies à Philippeville, à Bône et à Constantine sur les rats, nous avons été appelé à étudier diverses affections de ces rongeurs qui, parfois, par l'aspect des lésions macroscopiques qu'elles déterminent, peuvent en imposer pour des lésions pesteuses.

On sait en effet que, chez le rat pesteux, les lésions macroscopiques les plus importantes sont : la présence de bubons, l'hypertrophie du foie et de la rate et parfois les hémorrhagies péritonéales et pleurales.

D'après les récentes investigations des savants de l'*Advisory Committee des Indes* précité, ce sont les ganglions cervicaux qui sont le plus souvent hypertrophiés (**75 0/0**) dans la peste des rats. Cet ensemble de caractères macroscopiques est tellement ordinaire et fréquent, qu'il serait très aisé, d'après ces auteurs, d'établir le diagnostic de la peste chez le rat à la simple inspection macroscopique des organes internes [1].

Or, nous avons pu observer à Philippeville, à Constantine et à Bône deux maladies parasitaires du rat qui déterminent, comme dans la peste, non seulement l'hypertrophie parfois considérable du foie et de la rate, mais très souvent aussi celle des ganglions, et en particulier des ganglions cervicaux et sous-maxilliaires. Ce sont la *Trypanosomiase* et l'*Hémogrégariniase*.

La première est caractérisée par la présence, dans le sang et dans tous les organes, du *Trypanosoma lewisi*, et la seconde par celle d'une hémogrégarine découverte par Balfour en

1. *Loc. cit.*, vol. VII, n° 3, juill. 1907, p. 339.

Egypte [1] sur le *Mus decumanus* et qui présente la particularité d'infester les leucocytes mononucléaires, d'où son nom : *Leucocytozoon muris.*

J'ai observé la trypanosomiase 12 fois sur près de 300 rats examinés. Elle paraît plus fréquente chez le *Mus alexandrinus* (10 fois) que chez le *Mus decumanus* (2 fois).

L'*Hémogrégariniase* s'est montrée 18 fois et, contrairement à la trypanosomiase, elle semble se rencontrer exclusivement chez le *Mus decumanus.*

Une autre cause d'erreur est due à l'abondance parfois extrême, dans la rate, de *granulations éosinophiles* que l'on pourrait confondre avec des formes involutives du bacille de Yersin. Je l'ai observé 15 fois, aussi bien chez le *Mus decumanus* que chez le *Mus alexandrinus.*

Il y a donc lieu de ne pas se baser, pour déterminer la nature pesteuse des organes du rat, et en particulier de la rate, sur l'examen macroscopique seul. C'est, en définitive, l'examen microscopique qui peut élucider les cas douteux.

B. DÉTERMINATION DES PRINCIPALES ESPÈCES DE VARIÉTÉS DE RATS ET RÉPARTITION DE CES RONGEURS DANS LES DIVERS QUARTIERS DES VILLES CONTAMINÉES

Les rats que j'ai rencontrés, aussi bien à Philippeville qu'à Bône et à Constantine appartiennent aux trois espèces les plus connues de ces rongeurs :

1° Le *rat d'égout*, rat de ville ou surmulot, *Mus decumanus* Pallas (= *M. norwegicus*, Erxl.) dont les principaux caractères sont : pelage gris jaunâtre ou brunâtre en dessus, gris sale en dessous ; longueur totale du corps 40 à 45 centimètres, quelquefois plus, dont 17 à 20 centimètres pour la queue, qui est plus courte que le corps et bicolore, noirâtre en dessus, grise en dessous ; oreilles de la longueur du 1/3 de la tête, à poil ras ; légère palmure interdigitale ; mamelles au nombre de 12 (6 pectorales et 6 abdominales). Il fait la chasse aux autres espèces de rats et finit par les supplanter.

2° Le *rat de grenier* ou rat domestique, avec deux variétés :

1. A. Balfour, *Second report of the wellcome research laboratories*, Khartoum, 1906. p. 110.

Depuis, cette hémogrégarine a été signalée par J. Burton Cleland, à Perth, dans l'Australie occidentale, également sur *M. decumanus* (*Journ. of trop. med.*, IX, oct. 1906, p. 296), et par J. R. Adie au Punjab, cette fois sur *M. rattus*, associé le plus souvent au *Trypan. lewisi* (*Journ. of trop. med.*, 1er nov. 1906, p. 325). Enfin la commission anglaise aux Indes l'a retrouvée également chez *M. rattus* dans la proportion de 13,8 0/0 (*Journ. of Hyg.*, VII, n° 6, 1907, p. 911).

La *variété noire* (*Mus rattus* L. proprement dit) et la *variété à ventr blanc* (*Mus leucogaster*) ou plus ordinairement *Mus alexandrinus* Geoff.

Ces deux variétés se distinguent très nettement du *Mus decumanus*, en dehors de leur coloration différente, par les caractères suivants : longueur du corps 35 à 40 centimètres ; queue plus longue que le corps (20 à 21 centimètres) ; oreillles un peu plus longues que la moitié de la tête, qui est moins allongée que chez le *Mus decumanus*.

La variété noire, *Mus rattus* proprement dite, a un pelage noir foncé à reflets bleutés et le ventre gris noirâtre ; 12 mamelles comme dans le *Mus decumanus*.

La variété à ventre blanc, ou *Mus alexandrinus*, a le pelage gris roussâtre en dessus et blanc immaculé en dessous; mamelles au nombre de dix. Détail qui paraît général en Algérie : la variété noire est beaucoup plus rare que la variété blanche, laquelle est presque aussi répandue que *Mus decumanus*. Cette fréquence relative du *Mus alexandrinus* s'explique par le nombre élevé de magasins, greniers, minoteries et écuries qui existent en Algérie[1].

On trouvera dans le tableau ci-dessous la répartition et la fréquence comparée de ces diverses espèces ou variétés de rats observées à Philippeville, à Bône et à Constantine.

NOMBRE ET RÉPARTITION DES RATS EXAMINÉS A PHILIPPEVILLE, A BÔNE ET A CONSTANTINE

LOCALITÉS		Nombre de rats trouvés dans: Navires.	Quais.	Ville.	Faubourgs.	Campagne.	TOTAL	
Mus decumanus.	Philippeville.	11	14	92	16	12	145	178
	Bône........	»	»	31	»	»	31	
	Constantine..	»	»	2	»	»	2	
Mus alexandrinus.	Philippeville.	5	4	32	7	23	71	107
	Bône........	»	»	»	»	8	8	
	Constantine.	»	»	12	13	3	28	
Mus rattus........	Philippeville.	1	»	1	»	2	4	7
	Bône........	»	»	»	»	»	»	
	Constantine.	»	»	3	»	»	3	
					Total général.			292

Dans l'intérieur, il semble même que le *M. decumanus* devienne l'exception. C'est ainsi qu'à Batna, au S. de Constantine, M. Ravin, pharmacien-major, sur une centaine de rats examinés, n'a trouvé que des *M. alexandrinus*.

1. D'après Lataste (*Etude de la faune des vertébrés de Barbarie*, 1885, p. 433) le *M. rattus alexandrinus* est répandu dans toute l'Afrique du Nord, jusque dans les oasis sahariennes, où cette espèce est connue sous le nom de *rat des palmiers*. La forme type noire a été trouvée à Rovigo par Loche, qui assure qu'on la rencontre aussi dans toute l'Algérie.

Nous n'avons pas rencontré la 3e espèce de rat, signalée par Lataste, *M. barbarus*, qu'Hagenmuller aurait trouvée fréquemment à Bône.

Sur un total de **292** rats, nous trouvons :

178 *Mus decumanus*, soit 61 0/0.

107 *Mus alexandrinus*, soit 36,5 0/0.

7 *Mus rattus*, soit 2,5 0/0.

Quant à leur répartition par quartier, on voit que dans les ports de Philippeville et de Bône c'est le *Mus decumanus* qui domine en ville, pour devenir de moins en moins fréquent à mesure qu'on s'éloigne dans les faubourgs et enfin à la campagne. Le *Mus alexandrinus*, au contraire, prédomine en dehors des villes et devient de moins en moins fréquent à mesure qu'on pénètre au centre des quartiers populeux.

Enfin, à Constantine, le *Mus alexandrinus* semble, même au centre de la ville, être aussi répandu que dans les faubourgs, ce qui s'explique facilement par le grand nombre de magasins, de greniers, d'écuries, que l'on trouve au cœur même de cette ville ; quant à la variété noire, *Mus rattus* proprement dit, on voit, par le tableau ci-dessus, combien elle est relativement rare, aussi bien dans les ports que dans les villes de l'intérieur.

C. — Détermination des diverses espèces d'ectoparasites de rats d'Algérie (Constantine).

Notre attention, comme il a été dit plus haut, a été particulièrement dirigée vers l'étude des ectoparasites des rats qui jouent un rôle capital dans la transmission de la peste.

Le rat, contrairement à la plupart des autres mammifères, qui n'hébergent qu'un petit nombre d'espèces d'ectoparasites, sert d'hôte à plusieurs espèces de puces, de poux et d'acariens.

Nous ne nous occuperons principalement que des puces.

Nous avons rencontré quatre espèces de puces sur les rats d'Algérie, ce sont .

Pulex cheopis[1] Rothschild.

Ctenocephalus canis Curtis.

Ceratophyllus fasciatus Bosc.

1. Rothschild vient de distraire cette espèce du genre *Pulex*, pour la placer dans un nouveau genre, le genre *Læmopsylla* (*Parasitology*, a supplement of the *Journal of Hygiene*, vol. 1, n° 1, mars 1908, p. 15).

Ctenopsylla musculi Dugès.

Le tableau suivant donne le nombre et la répartition de ces puces suivant les localités et les espèces de rats.

Tableau indiquant le nombre de puces recueillies et leur répartition suivant les localités et les diverses espèces de rats qui les hébergent.

ESPÈCES DE PUCES		NOMBRE DE PUCES RECUEILLIES SUR Mus decumanus	Mus alexandrinus	Mus rattus	TOTAL	
P. cheopis	Philippeville...	99	16	»	115	154
	Bône..........	36	»	»	36	
	Constantine ...	»	3	»	3	
C. canis	Philippeville...	10	8	»	18	18
	Bône..........	»	»	»	»	
	Constantine ...	»	»	»	»	
C. fasciatus	Philippeville...	69	22	»	91	98
	Bône..........	2	»	»	2	
	Constantine ...	»	1	4	5	
C. musculi	Philippeville...	66	49	»	115	158
	Bône..........	4	22	»	26	
	Constantine....	»	10	7	17	
	Totaux.........	286	131	11		428

Sur un total de **428** puces recueillies sur **292** rats examinés, on trouve :

Pulex cheopis......................	154 soit	35	0/0 puces.	
C. canis..........................	18 —	4,2 —	—	
C. fasciatus......................	98 —	22,8 —	—	
C. musculi........................	158 —	36,6 —	—	

Quant à la proportion des diverses espèces de puces suivant les espèces de rats, on a :

1° Pour 178 *M. Decumanus* examinés.	*P. cheopis*.........	135	soit	47,5	0/0
	C. canis...........	10	—	5,5	—
	C. fasciatus........	71	—	24,7	—
	C. musculi.........	70	—	24,6	—
2° Pour 107 *M. alexandrinus*.......	*P. cheopis*.........	19	—	14,5	—
	C. canis...........	8	—	6	—
	C. fasciatus.......	23	—	17,5	—
	C. musculi........	81	—	61,8	—
3° Pour 7 *M. rattus* (variété noire)...	*P. cheopis*.........	—	—	—	—
	C. canis..........	—	—	—	—
	C. fasciatus.......	4	—	36,0	—
	C. musculi........	7	—	63,6	—

Il semble donc qu'en Algérie, sur le littoral tout au moins, à l'inverse de ce qui se passe aux Indes, c'est le *M. decumanus*, plutôt que le *M. rattus* qui servirait de véhicule au bacille.

Or, cette prédominance du *M. decumanus* n'a pas été constatée en Algérie seulement.

J. Ashburton Thompson, en 1904, à Sydney[1] trouve 32,15 0/0 de cette espèce, contre 14,36 0/0 de *M. rattus*. La première est également plus infectée que l'autre par *P. cheopis*. Des constatations à peu près identiques ont été faites par le même auteur, toujours à Sydney, en 1905 et en 1906.

Millard, à Ulmarra, près de Sydney, sur 1,128 rats, relève 1,125 *M. decum.* et 3 *M. rattus*[2].

Skschivan, à Odessa[3], sur 32 rats pesteux, trouve 28 *M. decum*; 1 *M. rattus* et 3 *M. alexandrinus*.

Buchanan, à Glascow constate que la majorité des rats infectés appartient à l'espèce *M. decumanus*.

A Bombay même, en réalité, les deux espèces sont très répandues. Mais *M. rattus* est le rat qu'on rencontre presque uniquement dans les maisons. A la campagne, comme en Algérie, c'est la seule espèce qu'on trouve.

La commission anglaise a fait, en outre, les observations suivantes[4] :

1° L'épidémie a une relation intime avec l'èpizootie du *M. rattus*;

2° Mais, en réalité cette dernière est précédée, toujours auparavant environ d'une épizootie de *M. decumanus* qui est même deux fois aussi accentuée qu'elle;

3° Elle semble donc être la cause de l'épizootie de *M. rattus*,

4° L'épidémie humaine est donc à son tour et en définitive attribuable à l'épizootie de *M. decumanus*.

1. J. Ashburton Thompson, *Report of the Board of Health on a Fourth Outbreak of Plagne at Sidney*, 1904. Sydney, 1905; Id. 1906 et 1907.
2. R.-S. Millard. *Report on Outbreaks of epizootic and Epidemic Plague, on the Northern Rivers*, 1905 (Id. *Reports*, Sydney 1906).
3. I. Skschivan, *Zur Kenntniss der Rattenpest. Centralbl. f. Bakter.*, XXXIII, p. 260,
4. *Reports on Plague Investigations in India. Journ. of Hygiene*, VII, n° 6, 1907, p. 761 et 767.

Il serait intéressant de suivre l'évolution de ces deux épizooties en Algérie et le vérifier si les faits analogues à ceux de Bombay ne s'y présentent pas [1].

De ces observations, il résulte :

1° Que *P. cheopis* et *C. musculi* sont les deux espèces de puces les plus répandues chez les rats d'Algérie (Constantine);

2° Que *P. cheopis* a une élection marquée sur le *Mus decumanus*, tandis que *C. musculi* se rencontre surtout sur le *Mus alexandrinus* et le *Mus rattus* (variété noire).

Ces deux constatations ont une importance capitale au point de vue de l'étiologie et de la dissémination de la peste.

En effet, à la suite d'expériences rigoureuses, inaugurées par Simond aux Indes, vérifiées par Gauthier et Raybaud à Marseille, par Tidswel, par Liston, et enfin par la *Commission anglaise pour l'étude de la peste aux Indes*, il est démontré aujourd'hui que la puce qui est surtout incriminée dans la propagation de la peste, est précisément la *Pulex cheopis*, qui pourrait passer du rat à l'homme et lui inoculer le bacille de Yersin, qu'elle puise dans le sang des rats pesteux dont elle gorge son estomac.

Or, d'après nos constatations, c'est le rat d'égout, *M. decumanus* qui, en Algérie, serait le plus infesté par cette espèce de puce, alors que l'autre espèce de rat, très commune également en Algérie, *M. alexandrinus*, rat de grenier à ventre blanc, ne semble l'être qu'accidentellement et n'héberge guère que la *Ctenopsylla musculi*, ou puce de la souris, qui ne piquerait que très rarement l'homme [2].

Des deux autres espèces de puces : 1° *Ctenocephalus canis* ou puce du chien, n'est pas très fréquente sur les rats d'Algérie (18 exemplaires recueillis, en proportion à peu près égale sur les deux principales espèces murines).

D'après les expériences de la Commission anglaise, citée plus haut, cette puce ne serait pas apte à communiquer la peste.

2° La dernière espèce : *Ceratophyllus fasciatus*, trouvée

1. A Batna et aux environs de cette localité, M. le pharmacien major Ravin, qui a bien voulu y rechercher les espèces de rats et leurs ectoparasites, nous écrit que sur les *M. alexandrinus*, qu'il y a capturés, il n'a trouvé que de *C. fasciatus* et jamais de *P. cheopis;* ce qui corrobore nos observations concernant la rareté de cette dernière espèce sur *M. alexandrinus* en Algérie.

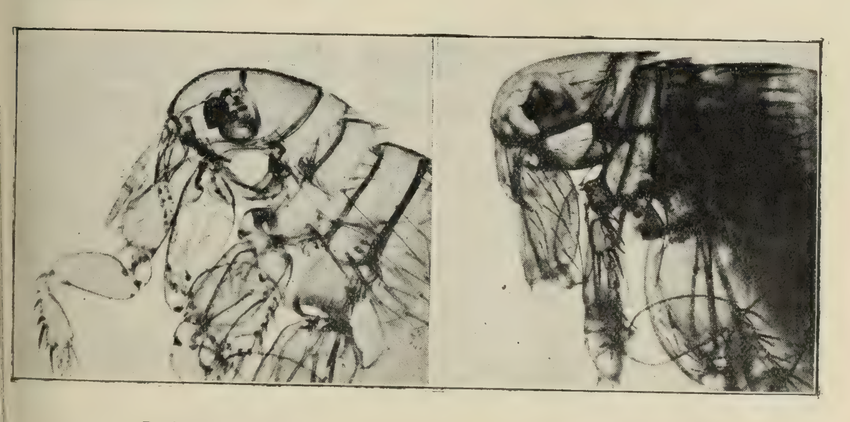
2. Récemment, Niclot (*Bull. de la Soc. de Path. exotique*, 1908, n° 6, p. 367, a signalé la présence de *P. cheopis* sur des *M. rattus*, capturés à Oran, mais qui provenaient de navires et non de la ville.

en assez grande abondance (**98** exemplaires, dont **69** sur *M. decumanus*), est, d'après Tiraboschi, la puce particulière aux rats des pays tempérés, alors que *P. cheopis* serait celle qui affectionne plus particulièrement les rats des pays chauds.

D'après le même auteur et d'après Galli-Valerio, Wagner, Nuttall, etc. *C. fasciatus* ne fréquenterait pas l'homme et par conséquent, bien que les expériences de la Commission anglaise aient démontré qu'elle peut infecter les animaux de laboratoire, elle semble devoir être moins dangereuse pour l'homme que *P. cheopis*.

Cette dernière reste donc la puce particulièrement nuisible et à éviter, dans la propagation de la peste, en Algérie comme ailleurs.

Dans nos examens, nous n'avons pas rencontré un seul exemplaire de *Pulex irritans*, la puce ordinaire de l'homme et que l'on observe quelque fois aussi sur le rat.



P. irritans (fig. 1). *P. cheopis* (fig. 2).

On sait que *P. irritans* et *P. cheopis* sont très voisines l'une de l'autre. Ces deux espèces appartiennent au groupe des Puces *non pectinées*, c'est-à-dire n'ayant pas de soies rigides en forme d'épines, disposées en peigne, soit au thorax, soit à la tête. Elles se distinguent l'une de l'autre par un ensemble de caractères, dont les principaux sont : chez *P. irritans*, une soie oculaire placée *en dessous* de l'œil et une autre en arrière du bord postérieur de la fossette antennale (*Fig.* 1 et 3); chez *P. cheopis*, une soie oculaire placée *en avant* de l'œil, et, derrière la fossette antennale, deux séries de soies : l'une de deux à trois soies le long de la fossette antennale, l'autre de quatre à cinq soies le long du bord postérieur de la tête.

Ces deux séries sont disposées en forme d'un angle ouvert vers la partie

supérieure de la tête et se réunissent à l'angle inféro-postérieur de la tête (*Fig.* 2 et 4)[1].

Les trois autres espèces : *C. fasciatus* (fig. 5), *C. canis* et *C. musculi* (fig. 6), appartiennent au groupe des puces *pectinées*, c'est-à-dire possédant des soies



Fig. 3. — *Pulex irritans* L. ♂. — Puce de l'homme. Caractères principaux : *une seule soie à la partie postérieure de la tête.*

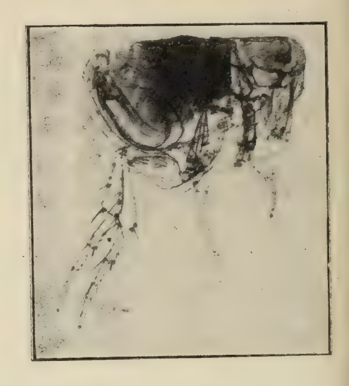


Fig. 4. — *Pulex cheopis* Roths. ♂ — Puce des rats des pays tropicaux. Pique l'homme. Caractères principaux : *deux rangées de soies à la partie postérieure de la tête :* 4 à 5 soies parallèles au bord postérieur de la tête, et 2 ou 3 parallèles à la fossette antennale.

rigides et épineuses disposées en forme de peigne, soit au *pronotum*, soit à la fois au pronotum et à la tête. Elles sont, par suite, facilement reconnaissables et se distinguent rapidement par un simple examen des deux premières qui sont dépourvues de ces appendices.

D'autres ectoparasites ont encore été rencontrés par nous sur les rats d'Algérie, en particulier des *Pédiculidés*, appartenant principalement au genre *Polyplax* (*Haematopinus*) et enfin des *Acariens*. Ces derniers abondent sur le *M. decumanus*. Quelques uns sont gorgés de sang et pourraient également jouer un rôle dans la propagation de la peste, tout au moins de rat à rat. Skinner considère en particulier l'*Hyalomma œgyptium* comme un des véhicules de cette affection[2].

1. D'après les descriptions de C. Tiraboschi (Les Rats, les Souris et leurs parasites cutanés... *Arch. de Parasitologie* VIII, n° 2, 1904 et XI, 1907, n° 4), et de H.-C. Rothschild (principalement : *Journ. of Hygiene*, vol. VII, 1907, n° 3, et *Parasitology*, a supplement of the *Journ. of Hygiene*, mars 1908).

2. Cité par Tiraboschi, *Arch. de Parasitologie*, XI, n° 4, 1907, p. 61.



Fig. 5. — *Ceratophyllus fasciatus* Bosc. ♂. — Puce des rats des pays tempérés. Ne pique pas l'homme. Caractères principaux : *peigne de 18 épines noires* (9 de chaque côté) *au pronotum.*

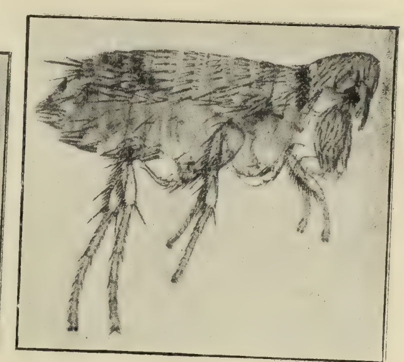


Fig. 6. — *Ctenopsylla musculi* Dug. ♀. — Puce de la souris (fréquente sur les rats). Ne pique pas l'homme. Caractères principaux : *tête conique, yeux rudimentaires, peigne de 22 épines noires* (11 de chaque côté) *au pronotum, 4 sur les joues et 2 au sommet de la tête.*

III

CONSIDÉRATIONS ET CONCLUSIONS SUR L'ÉTIOLOGIE ET LA PROPHYLAXIE DE LA PESTE EN ALGÉRIE, D'APRÈS LES CONSTATATIONS PRÉCÉDENTES.

Des observations, relatées dans ce travail, découlent les constatations suivantes :

1° La peste des rats existe dans le département de Constantine, tout au moins dans le port de Philippeville.

Il est probable qu'il en est de même pour les autres ports, et en particulier à Bône, où cependant l'épizootie n'a pu être nettement constatée ;

2° Les rats des localités où l'examen a été pratiqué hébergent une grande quantité d'ectoparasites, en particulier des puces considérées comme les principaux agents de transmission de la peste ;

3° Parmi les diverses espèces de puces, une des plus répandues en Algérie, comme aux Indes, est la *Pulex cheopis*, que les données rigoureuses de la science ont démontré être la plus dangereuse sous ce rapport, car elle est à peu près la seule qui puisse piquer à la fois le rat et l'homme et, par suite, inoculer le virus pesteux du rat pesteux à l'homme sain ;

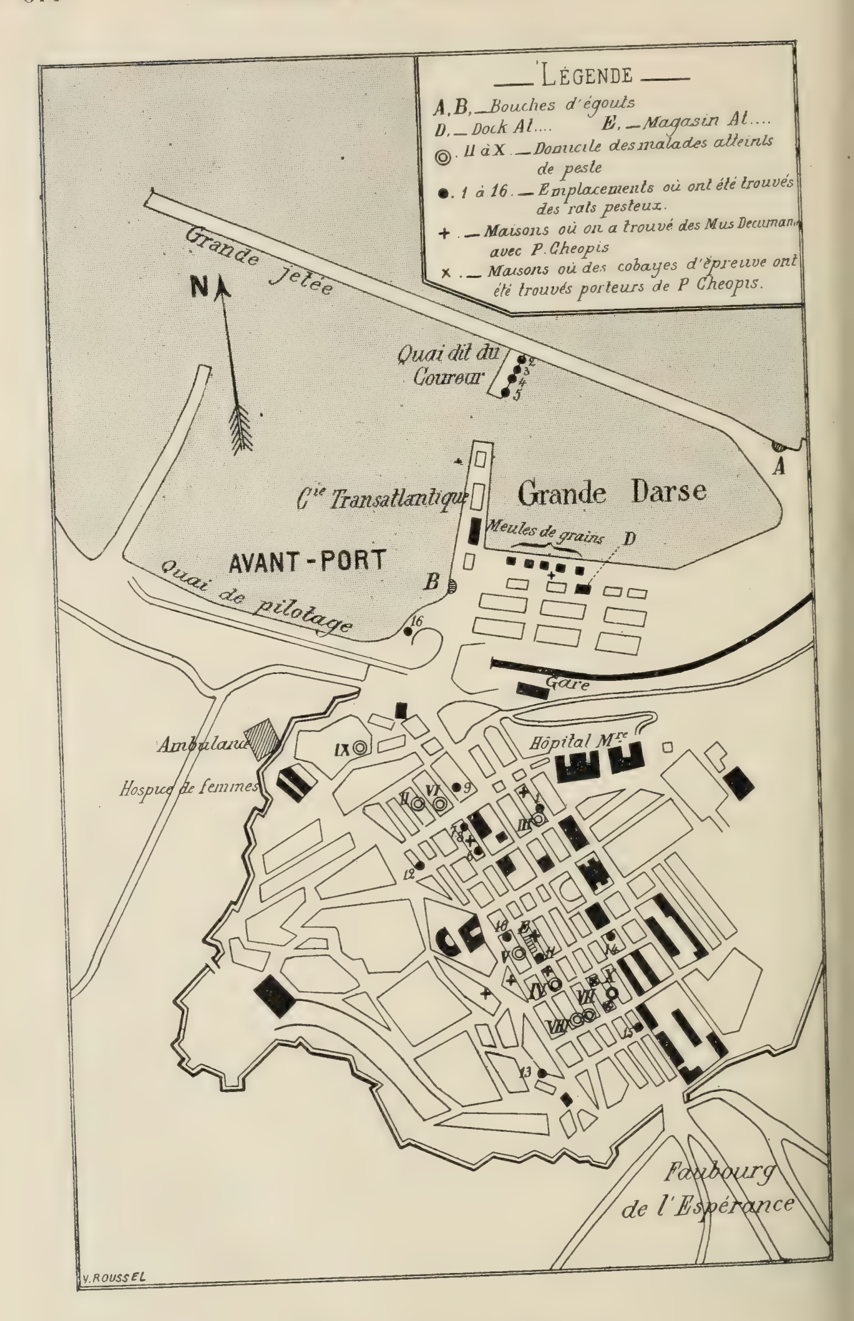


Fig. 7. — Plan de Philippeville.

4° L'espèce de rat qui sert principalement d'hôte à la *Pulex cheopis* en Algérie est le *Mus decumanus*, rat d'égout ou surmulot, qui abonde dans les villes et en particulier dans les ports ;

5° C'est donc principalement aux rats d'égout qu'il faut appliquer les mesures de dératisation, mesures qui constituent la partie la plus essentielle de la prophylaxie antipesteuse.

Si l'on jette les yeux sur le plan de Philippeville (*Fig.* 7), on remarquera de suite, comme nous l'avons dit plus haut, que les cas de peste constatés sont précisément groupés dans les rues où l'on a trouvé le plus grand nombre de rats pesteux, c'est-à-dire dans les rues Valée, de Constantine et Nationale.

Les principaux cas de peste (indiqués en chiffres romains)[1] sont en particulier groupés autour du magasin *E* qui n'est que le dépôt de farines provenant du dock du même négociant situé sur les quais (*D*).

Il est à remarquer que les 10 malades atteints ont eu des rapports plus ou moins directs, soit avec les docks, soit avec le magasin en question de la rue Valée, comme le fait a été très nettement établi par M. le Dr Zoeller, dont nous transcrivons les observations, qu'il nous a très obligeamment communiquées :

« Le no I, Maz..., matelot du *N.-D.-d'Afrique* est arrivé à Philippeville malade le 11 octobre ; il a débarqué au voisinage des docks ;

« Le no II, de Luis..., portefaix, habitait 7, rue Valée (voir le plan), et travaillait sur les quais au voisinage des mêmes docks ;

« Le no III, Peyb..., était employé au bureau des passagers de la Compagnie Transatlantique ;

« Le no IV, Aiss..., portefaix, travaillait, comme le no II, sur les quais près des docks et participait au transport des sacs de farine des mêmes docks au magasin, 46 rue Valée (*E*) ;

« Le no V, Amalf..., n'a rien de commun avec les quais, mais il habite 35 rue Valée, précisément en face du no 46 où se trouve le magasni *E* ;

« Le no VI, Bossat..., a travaillé, quelques jours avant de tomber malade, dans le même magasin *E*. Il habite en outre au no 6, rue Valée, en face l'habitation du no II.

« Le no VII, Nia Belk..., portefaix, travaillait sur les quais, au magasin Gar..., derrière les docks Att... ; demeurait 30, rue Constantine, en face du no VIII et non loin du no IV ;

« Le no VIII, Matt..., portefaix, était employé sur les quais de la Compagnie Transatlantique et, comme je viens de le faire remarquer, habite 51, rue de Constantine, en face le no VII ;

« Le no IX, Crast..., fille du suisse de l'église, va à l'école et n'a rien de commun avec les quais ; elle habite rue Amiral-Courbet ; mais son père, en

dehors de ses occupations à l'église, travaille sur les quais de la Compagnie Transatlantique ;

« Enfin le n° X, CAMP..., est le fils d'un boulanger, situé au n° 67 de la rue Nationale. Personnellement il avait été payer une traite, 8 jours avant le début de sa maladie, dans les bureaux *E*... et avait vendu une cinquantaine de sacs de farine vides à peu près à la même époque. »

Il est donc très nettement établi que ces dix malades ont eu non seulement des rapports plus ou moins directs avec les quais, les magasins et les docks où sont les sacs de farine et de grains, mais qu'ils habitent pour la plupart les uns à côté des autres.

Il semble ainsi, qu'en dehors de la contamination première, qui a pu provenir de rats amenés par des navires suspects, soit d'Oran, soit de Tunisie, où l'épidémie régnait alors, soit même de plus loin, l'épizootie pesteuse se soit rapidement propagée par les rats et qu'elle ait déterminé d'autres cas non contractés forcément sur les quais, donnant ainsi naissance à des *épizooties de maisons*.

L'histoire de CAMP..., N° X, est particulièrement intéressante à ce sujet.

En effet, le père de ce jeune homme, qui est boulanger, fait le voyage de Marseille quelques jours avant que son fils ne tombe malade, pour se faire traiter d'une affection chronique par un spécialiste de cette ville. Deux jours après son arrivée, il tombe malade chez ce praticien même, atteint de fièvre et de bubon inguinal, très bénin du reste. Quelques mois auparavant, son deuxième fils aurait eu également un léger bubon à l'aine, accompagné de fièvre, le tout presque inaperçu. Enfin, le 26 avril, un indigène, portefaix de son métier, avait été hospitalisé pour un énorme bubon inguinal suppuré, très probablement pesteux.

Il semble qu'il existe plus qu'une coïncidence entre ces trois derniers cas « buboniques » et qu'il y ait eu réellement un foyer pesteux dans cette maison de la rue Nationale, du reste, peu éloignée des autres cas de la rue Valée.

D'autre part, la constatation du cas survenu chez le deuxième fils CAMP... bien avant l'apparition des cas du mois d'octobre, puis celui du n° III (PEYBER...), antérieur comme début au premier cas, incriminé comme ayant amené l'infection à Philippeville et enfin celui du portefaix précité, semblent démontrer qu'il existait des rats pesteux bien avant l'arrivée à Philippeville du navire *N. D. d'Afrique*, où se trouvait le matelot MAZ... (n° I).

Il n'y a qu'à se rappeler les trois cas survenus à Philippeville en 1899 [1], et les trois autres cas de l'épidémie de 1904, pour rapprocher tous ces faits, et émettre l'hypothèse qu'en réalité, il existe depuis plusieurs années une épizootie pesteuse sur les rats à Philippeville, épizootie jusqu'ici bénigne, mais dont la virulence pourrait se réveiller d'un jour à l'autre et provoquer une épidémie humaine sérieuse.

Les différents cas qui se sont produits dans la famille Camp... sont intéressants à un autre point de vue. Grâce en effet à l'activité inlassable de M. le Dr Zœller, divers *cobayes-réactifs* ont été placés, suivant la méthode préconisée par Liston, dans diverses maisons où l'on avait constaté à la fois des cas de peste et des rats pesteux; 4 de ces cobayes ont été placés dans le fournil même de la boulangerie où se trouvent des sacs de farine, et dans lequel s'ouvre un « tout à l'égout » *sans syphon*, conditions éminemment favorables pour l'entrée des rats dans le fournil. Or, sur ces 4 cobayes, un a été reconnu atteint de peste avec bacilles spécifiques dans la rate; les trois autres ont été trouvés indemnes, mais étaient porteurs d'un grand nombre de puces appartenant précisément à l'espèce *Pulex cheopis*, la puce du rat qui véhicule la peste.

Il semble donc de toute évidence que le cobaye pesteux avait été infecté par les puces des rats qui venaient dans le fournil, où du reste de nombreux trous avec débris de grains et de farine ont été retrouvés.

D'autres puces, appartenant à *P. cheopis*, ont également été recueillies sur un autre cobaye placé dans le magasin Thiz..., 69, rue Nationale, voisin de la boulangerie Camp... et où il y aurait eu des rats communs aux deux locaux.

Ces constatations sont très intéressantes et démontrent combien a été nette l'infection par les puces des rats pesteux, venus par les égouts dans les maisons, et combien l'épizootie murine a été manifeste, et probablement antérieure à l'apparition du premier cas, provenant du navire *N. D. d'Afrique*.

LA DÉRATISATION, MESURE PROPHYLACTIQUE PAR EXCELLENCE

La conclusion principale et pratique à tirer de toutes ces constatations, c'est que la mesure prophylactique qui s'impose, en Algérie, comme partout ailleurs, est la dératilisation pratiquée systématiquement et sans relâche.

Nous avons déjà dit comme elle avait été effectuée, grâce au zèle et à l'activité des municipalités, des autorités militaires

1. Voir à ce sujet le travail de M. H. Soulié : *Sur quelques cas de peste bubonique observés en Algérie dans ces dernières années* (*C. R. du Congrès colonial français*, 1904. — *Section de médecine et d'hyg. colon.*, p. 98).

et des médecins sanitaires chargés d'en surveiller l'exécution et cela en particulier à Philippeville et à Bône.

Procédés les plus recommandables de dératisation.

De tous les moyens préconisés, quels sont les plus recommandables :

1° Pour la dératisation des navires, les appareils à dégagement d'acide sulfureux ont fait leurs preuves. Les chambres de commerce de Philippeville et de Bône sont actuellement munies de ces appareils. Il m'a été permis à Philippeville de constater l'efficacité de ce procédé dont l'éloge n'est d'ailleurs plus à faire. Des cobayes témoins placés dans l'intérieur des navires en dératisation ont été asphyxiés en 15 à 20 minutes;

2° En ce qui concerne la dératisation des égouts, la sulfuration est le procédé le plus généralement employé.

Nous nous permettrons de signaler un autre procédé, qu'on peut appeler la *chloruration* des égouts et qui a donné des résultats extrêmement satisfaisants à Constantine, sur les indications de M. le pharmacien-major COUTON, de l'hôpital militaire.

Ce procédé consiste : 1° à verser dans les bouches d'égout du chlorure de chaux délayé au 1/3; 2° une demi-heure après, de l'acide chlorhydrique à 1/10.

Il en résulte un dégagement de chlore à l'état naissant qui asphyxie rapidement les rats jusque dans les recoins les plus éloignés, en raison même de la pesanteur de ce gaz, avantage qu'il possède sur le gaz sulfureux qui, au contraire, est très léger et n'atteint pas les rats dans la profondeur de leurs repaires.

L'expérience, pratiquée par les soins du Génie M^{re} sur les rats des égouts de la Casbah qui ont une canalisation spéciale, a permis de constater que, grâce à ce procédé, quantité de cadavres de rats ont été retrouvés à la suite de cet essai qui, à notre avis, est préférable à la sulfuration telle qu'on la pratique ordinairement.

Parmi les substances toxiques à incorporer dans les préparations alimentaires destinées à faire périr les rats, nous avons eu l'occasion d'expérimenter la poudre de Scille.

Le procédé consiste à incorporer dans un kilogr. de viande cuite, 100 grammes de *poudre de Scille* avec XXX gouttes d'essence de fenouil, dont

les rongeurs sont très friands et qui les attire. On débite le tout en boulettes de la grosseur d'une petite noix. Un rat pris le soir dans une ratière contenant six de ces boulettes, a été trouvé mourant le lendemain matin. Quatre des boulettes étaient intactes, deux autres avaient été dévorées à moitié seulement.

Il existe bien dans le commerce une préparation à la Scille, décorée du nom suggestif de *tord-tripes*, mais les boulettes dont la substance principale est constituée par du saindoux, ne sont pas aromatisées par de l'essence de fenouil qui, nous le répétons, semble attirer les rongeurs d'une façon remarquable.

Curage et réfection des égouts, mesure complémentaire de la dératisation.

Le rat d'égout étant, en Algérie tout au moins, le grand véhicule de la peste, une mesure d'extrême urgence s'impose, comme complément de la dératisation, c'est le curage et, si possible, la réfection d'une grande partie de la canalisation dans la plupart des villes d'Algérie, où cette partie de la voirie, fondamentale au point de vue de l'hygiène, laisse beaucoup à désirer.

A *Bône* en particulier, le peu de pente, ou même parfois le manque presque absolu de pente, détermine la stagnation des immondices de toutes sortes qui nécessite des travaux de curage très fréquents et très malsains, et cela malgré un puisard où les eaux d'égout viennent se déverser, puis sont reprises par une machine élévatoire et envoyées ensuite dans un canal qui les mène à la Seybouse. Il serait de toute nécessité qu'une chasse d'eau suffisante puisse entraîner tous les résidus des égouts au loin et dans la mer.

M. le Dr Nicolas propose très judicieusement d'utiliser à cet effet l'ancien château d'eau situé auprès de l'hôpital militaire dans la partie la plus haute de la ville, à 30 mètres environ au-dessus de la nouvelle ville.

A *Philippeville* la bouche principale d'égout (*A.* sur le plan) s'ouvre en mer non loin de la grande jetée. Une quantité considérable de rats, chassés par la sulfuration, sont venus mourir le long des moellons de cette digue. Le prolongement de cette conduite principale à un ou deux kilomètres s'impose.

Il existe une autre bouche B située dans l'avant-port et qui s'obstrue fréquemment.

Des quantités considérables de rongeurs ont également été trouvés aux abords de cette bouche d'égout, avant l'épidémie, où ils étaient attirés par les immondices de toute nature qui y étaient accumulées.

Ces bouches d'égout doivent être supprimées et reportées plus loin et également en pleine mer.

Du reste la ville de Philippeville vient d'être autorisée, par décret du 4 décembre 1907, à emprunter une somme de 296,000 francs destinée, en rande partie, à la réfection de son système d'égouts.

Nous signalerons enfin le grave inconvénient, au point de vue de l'hygiène, qui résulte de l'encombrement des quais par les meules de grains qui y sont entassées.

A notre passage à Philippeville, pour ne citer que ce port, il existait encore (voir l'emplacement sur le plan) environ 83,000 sacs de céréales (blés et orges), répartis en face des docks, en 45 meules de diverses grandeurs.

Il est entendu que ces meules, très hermétiquement fermées, il est vrai, ne renfermaient qu'un très petit nombre de rongeurs, probablement en raison des mesures de dératisation qui ont été prises. Il n'en est pas moins vrai que ces meules sont des réceptacles tout naturels pour les rats et les souris, où les années précédentes on les avait tués, à Philippeville et à Bône, par centaines.

Les rats pesteux des navires envahissent ces meules et peuvent être une cause de contagion pour les autres rats de la ville et par suite amener la peste chez l'habitant.

Il y aurait lieu, tout au moins, d'obliger les propriétaires des meules à ne les laisser qu'un temps limité sur les quais et en tout cas, à pratiquer fréquemment la dératisation[1].

1. A la suite des cas de peste survenus en Algérie et des rapports qui lui ont été adressés à ce sujet par le Service sanitaire Maritime et par nous-même, M. Jonnart, Gouverneur Général de l'Algérie, a adressé dès le mois de mars 1908, à MM. les Préfets des départements d'Alger, d'Oran et de Constantine deux circulaires de la plus haute importance concernant :

1° *L'organisation*, à la Direction de la Santé d'Alger, *d'un service permanent de dératisation* qui sera exercé à toutes les pratiques de la dératisation aussi bien à bord des navires que sur les quais et à l'intérieur de la ville. Le personnel de cette *brigade de dératisation* sera également mis au courant de la désinfection, de la préparation et de l'envoi des prélèvements à effectuer sur les rongeurs capturés en vue des examens bactériologiques qui, dorénavant, seront opérés d'une manière régulière et permanente. Les agents de ce personnel, au nombre de trois, pourront être envoyés suivant les besoins, dans les différents ports de la Colonie, pour servir de moniteurs au personnel des autres directions sanitaires.

2° *Les mesures à prendre dans tous les ports pour éviter le retour des épidémies de peste.*

M. le Gouverneur Général rappelle, à ce sujet, la circulaire ministérielle du 30 novembre 1907, concernant les mesures de dératisation généralisées à tous les ports. Il insiste ensuite sur la nécessité d'une surveillance attentive des égouts, refuge ordinaire des rats et en particulier de ceux qui sont le plus sensibles à l'infection par le bacille pesteux. Il serait bon que les municipalités fassent réparer les anciens égouts et que, dans la construction des nouveaux égouts, il ne soit employé que des matériaux vernissés, des drains en fonte ou en ciment armé résistant aux déprédations des rats.

De leur côté, les Chambres de Commerce devront concourir à la défense sanitaire des ports et, en particulier, prendre les mesures nécessaires pour assurer la destruction des rats dans les docks et les hangars.

L'administration des Ponts et Chaussées veillera à ce que les quais des ports soient tenus dans le plus grand état de propreté... et à ce que ces derniers restent

le moins possible encombrés par les marchandises recherchées par les rongeurs (grains, farines, etc.). Elle appliquera strictement les règlements qui fixent les délais de séjour de ces marchandises sur les quais. On cherchera, en particulier, à les abriter dans des locaux fermés, faciles à désinfecter par les antiseptiques gazeux ou entourés d'une lame de zinc ou de tôle, enfoncée en terre et suffisamment élevée pour prévenir l'introduction ou la sortie des rats. Les meules de céréales devront, de préférence, être placées sur les parties dallées des quais et en tous cas, être séparées du sol par une planche reposant sur des solives assez épaisses pour permettre le passage des tuyaux des appareils de désinfection et au besoin des chats ou des chiens ratiers. *Recueil des instructions et décisions*... concernant les cas de peste des ports algériens en 1907, par le Dr L. RAYNAUD, Alger 1908.

NOUVEAU MICROBE PATHOGÈNE POUR LES CHATS

Par M. Z. SKRZYNSKI

(Travail du laboratoire de M. Danysz)

Dans le courant de l'hiver dernier, nous avons eu l'occasion d'étudier une épidémie qui depuis quelques années déjà, sévissait parmi les chats du domaine de la Gastine (Eure). Cette épidémie revenait chaque année à peu près à la même époque et détruisait surtout les jeunes animaux.

En février dernier, plusieurs chats succombèrent en quelques jours et M. Ed. Croux, propriétaire du domaine de la Gastine, eut l'obligeance de nous envoyer un de ces animaux qui venait de mourir. M. Croux avait employé, quelque temps auparavant, le coccobacille de M. Danysz pour la destruction des rats et il supposait que la maladie de ses chats avait la même origine.

L'autopsie de l'animal envoyé et les cultures des microbes obtenus après ensemencement de son sang, nous ont convaincu qu'il s'agissait là d'une maladie différente, causée par un coccobacille qui ne figure pas encore dans la liste pourtant si longue des coccobacilles pathogènes. Inoculé ou donné par ingestion à des chats jeunes ou âgés, ce microbe les tue en quelques jours, tandis que les souris ou les rats nourris avec les mêmes cultures ne présentent jamais aucun signe de malaise apparent.

Par l'ensemble de ses caractères morphologiques, culturaux et physiologiques, le microbe de la maladie des chats appartient au groupe du colibacille.

Il se distingue pourtant des B. coli typiques par ce fait qu'il est immobile dans tous les milieux et dans toutes les conditions de culture, par son action spécifique sur les chats et par certains autres caractères qu'il nous semble intéressant d'indiquer en détail.

Morphologie. — Au microscope, les microbes se présentent sous la forme des bâtonnets plus ou moins longs. à bouts arrondis. Il n'est pas rare de trouver des formes ovoïdes presque rondes à côté de bâtonnets 4 ou 5 fois plus longs que larges. Il ne se forme jamais de filaments.

Ces formes sont très stables sur tous les milieux de culture et dans les cultures de tous les âges.

Le microbe s'est montré immobile dans toutes les cultures que nous avons examinées, bien qu'il soit animé d'un mouvement Brownien très vif.

Il se colore facilement par toutes les couleurs basiques d'aniline usuelles et ne prend pas le Gram.

Quand on le colore d'une façon peu intense, on voit apparaître au milieu une tache claire.

Il ne forme ni capsules ni spores.

Cultures. — Le microbe de la maladie des chats pousse bien dans tous les milieux de culture habituellement employés, à des températures variant de 12° à 46°, avec un optimum à 37°.

La température critique de développement est entre 47°-48°. C'est un anaérobie facultatif.

Les cultures sur quelques milieux exhalent après 2 ou 3 jours une odeur fétide, rappelant celle du Bac. Coli.

Bouillon. A 37° les cultures se développent avec une rapidité remarquable. Ensemencé avec une goutte de culture, le bouillon devient nettement trouble déjà après 2 ou 3 heures.

Après 24 heures, le bouillon présente un fort trouble avec ondes soyeuses. Pas de bulles gazeuses. Quelquefois on voit sur le verre un fragile anneau qui ne tarde pas à disparaître. Le trouble persiste alors sans changer son aspect pendant 8-10 jours, après quoi apparaît un voile mince, qui gagne toute la surface en 15-20 jours. Alors le liquide commence à s'éclaircir.

Dans l'eau peptonisée le trouble est moins abondant, le voile et l'éclaircissement du liquide apparaissent plus vite.

Gélatine. — Elle n'est jamais liquéfiée. La culture ne diffère pas beaucoup de celle du colitypique. Toutefois les colonies ne s'étalent pas autant et ont un aspect plus brillant.

Gélose. — Les cultures sur gélose se laissent distinguer assez nettement de celle du coli. A 37° un ensemencement abondant donne une culture déjà apparente après 4-6 heures. Les colonies sont brillantes et humides, à bords réguliers, un peu surélevées en cône, avec un point plus blanc au milieu et ne s'étalent pas beaucoup en surface. Dans des cultures de quelques jours on voit de longs cristaux, collés sur la surface inférieure de chaque colonie et dus évidemment à la précipitation des phosphates.

Sur le *sérum* solidifié, le développement est grêle et pas caractéristique.

Sur *pomme de terre* le développement est abondant. La couche est épaisse, jaunâtre, à surface plissée et luisante. Pas de changement de couleur.

Le *lait* est coagulé en 24 heures avec une réaction fortement acide. La caséine précipitée n'est peptonisée qu'à la longue et très peu.

Sur *artichaut* ce microbe pousse aisément et donne une forte coloration verte.

Sur les milieux chimiquement définis il ne se développe qu'en présence d'un sucre fermentescible.

PROPRIÉTÉS BIO-CHIMIQUES.

Action sur les matières azotées. — L'action de notre microbe sur les matières albuminoïdes n'est pas appréciable. Il ne pousse pas sur l'albumine cuite et ne liquéfie pas la gélatine ; il ne produit donc pas de diastases protéolytiques bien actives. De même que le colibacille, il préfère les albumoses et les peptones.

Dans les milieux peptonés et dépourvus de sucres la réaction, neutre au début, devient avec le temps nettement alcaline par la production d'amines et même d'ammoniaque libre.

On y trouve toujours de l'*indol.*

Parmi les produits de décomposition protéolytique il n'y a ni leucine, ni tyrosine. On note l'absence d'hydrogène sulfuré et de phénol.

Ce microbe sécrète des ferments réducteurs, mais sa puissance réductive est 10-12 fois plus faible que celle de Bactérium coli. (décoloration du bleu de méthylène).

Il réduit les nitrates alcalins en nitrites. Cette décomposition des nitrates n'est pas poussée jusqu'au dégagement d'azote libre.

ACTION SUR LES HYDRATES DE CARBONE.

Son action sur les hydrates de carbone est énergique.

Il fait fermenter énergiquement la *mannite* et plus faiblement la *glycérine.*

Le *glucose* est décomposé avec un fort dégagement de gaz. Parmi les produits de fermentation j'ai trouvé de l'*acide lactique*, de l'*acide acétique*, de l'*acide butyrique* et de l'*alcool éthylique.*

Parmi les disaccharides, le *lactose* et le *maltose* sont le plus énergiquement attaqués. La fermentation du lactose donne les

mêmes produits que celle du glycose, mais le dégagement des gaz est très faible.

Dans le lait il se forme, aux dépens du *sucre de lait*, de l'acide lactique et des traces d'acide butyrique.

Il est à noter que le *saccharose* n'est attaqué que très faiblement et après plusieurs jours, sans être interverti. Dans des cultures sur gélose sucrée, le saccharose reste intact pendant plusieurs mois. Ce caractère différencie nettement notre microbe du colibacille typique.

Enfin il liquéfie l'*amidon* cuit mais très faiblement et à la longue. Le *dextrine*, l'*inuline* et le *glycogène* restent intacts.

Vitalité. — Le microbe est assez résistant. Il se conserve bien et longtemps dans tous les milieux de culture. Il résiste à une température de 53°-54° pendant 4-5 heures et n'est tué que par un chauffage à 60° en ampoules scellées.

La résistance de ce microbe aux antiseptiques ne diffère pas sensiblement de celle du colibacille typique.

Virulence et inoculations expérimentales. — Pour étudier la virulence de la culture originale, nous l'avons administrée à divers animaux soit par injections, soit par ingestions.

On a pris 2 chats adultes et 3 jeunes de 3-5 mois. Les deux premiers ont mangé un peu de culture en bouillon avec leur repas ordinaire et ont succombé l'un après 7 jours, l'autre après 19 jours. Un des petits chats, nourri avec 1 c. c. de culture est mort en moins de 40 heures, un autre, inoculé dans le péritoine avec 0,5 c. c. de culture en bouillon, est mort en moins de 20 heures; le troisième, inoculé avec 0,5 c. c. sous la peau, a survécu. Il a présenté au point d'inoculation un abcès qui a guéri rapidement.

Le sang de tous les chats morts a donné une culture de microbes identiques à ceux qui avaient été employés.

Les souris, les rats, les cobayes, les lapins et les pigeons nourris avec les mêmes cultures se sont montrés absolument insensibles.

Les pigeons supportent très bien l'injection intrapéritonéale de 1 c. c.

Les souris inoculées sous la peau, à la dose de 1 c. c., présentent un abcès passager, tandis qu'une dose de 0,025 c. c. inoculée dans le péritoine les tue rapidement (en 4-10 heures.)

Les rats blancs sont plus résistants et ne succombent qu'à l'injection intrapéritonéale de 1 c. c.

Les cobayes de 250 à 400 grammes, inoculés sous la peau à la dose de 0,5 c. c., succombent le plus souvent en 1 à 5 jours. Inoculés dans le péritoine avec 0,5 c. c. ils meurent en quelques heures.

Les lapins sont plus résistants que les cobayes et ne succombent qu'en 12-15 heures, après avoir reçu dans le péritoine 1 c. c. de culture, cette dose injectée sous la peau ne produit aucun effet.

La maladie naturelle des chats ou provoquée par des injections chez les animaux d'expérience, ne présente rien de bien caractéristique. Les animaux souffrent visiblement.

Chez les cobayes inoculés dans le péritoine, la température tombe vite et graduellement jusqu'à la mort.

A l'autopsie on trouve, chez tous les animaux d'expérience, une très légère congestion intestinale; tous les autres organes et glandes ne présentent rien d'anormal. Chez les souris les capsules surrénales sont souvent nettement congestionnées. L'exsudat, s'il existe, est sanguinolent, riche en microbes et pauvre en leucocytes.

Dans le sang, le microbe se trouve toujours en abondance, et la culture obtenue conserve sa virulence très longtemps.

Toxine. — Une culture en bouillon de 3 semaines, filtrée sur bougie de porcelaine, contient des produits toxiques capables de tuer les souris par injection intrapéritonéale à la dose de 0,5 à 1 c. c. en 2 à 3 jours. Portée à 100° cette toxine perd complètement son pouvoir toxique. Chez le cobaye la toxine non chauffée provoque, à la dose de 4 c. c., une hypothermie passagère. Le lapin est encore moins sensible. La culture de 24-48 heures est complètement dépourvue de produits toxiques solubles.

Immunisation. — Les animaux qui ont résisté à une seule injection sous-cutanée ou intrapéritonéale sont nettement immunisés. On obtient le même effet en injectant plusieurs fois dans le péritoine 0,5 à 1 c. c. d'une culture chauffée à 100° pendant 10 minutes.

Un cobaye inoculé sous la peau avec 0,2 c. c. et une souris avec 0,1 c. c. de culture virulente ont résisté, 10 jours après, à

une injection intrapéritonéale de 0,5 c. c., toujours fatale pour les témoins. Deux autres cobayes inoculés dans le péritoine 10 fois à 3 ou 4 jours d'intervalle, avec des doses de 0,5 à 1 c. c. de culture stérilisée, ont supporté 1 c. c. de culture virulente dans le péritoine sans présenter aucun signe de maladie.

Enfin le jeune chat, qui avait reçu sous la peau 0,5 c. c. de culture virulente a résisté, 10 jours après, à une dose de 1 c. c. injectée dans le péritoine et 1 c. c. administré par la bouche en même temps.

Une immunité très solide a été également conférée à un cobaye par une seule injection de 4 c. c. de produits d'une culture filtrée sur bougie Chamberland. Le cobaye n'a présenté à la suite de cette injection qu'une légère hypothermie.

Agglutination. — Le sérum des cobayes immunisés devient agglutinant, mais l'apparition de ce pouvoir est beaucoup plus lente que celle de l'immunité. Ordinairement le pouvoir agglutinant du sérum n'apparaît qu'après 3 ou 4 injections de virus. Après 6 ou 10 injections soit de culture virulente, soit de culture atténuée ou stérilisée, le pouvoir agglutinant devient intense. Un tel sérum pris sur un cobaye agglutine les microbes bien nettement au microscope à 1/1.000, tandis que le sérum normal ne les agglutine pas du tout.

Le Colibacille et le Bac. Typhique ne sont pas plus agglutinés par ce sérum que par le sérum normal; réciproquement le sérum antityphique ne touche pas le microbe en question.

Sérothérapie. — Le sérum d'un animal préparé possède, en outre, des propriétés préventives et curatives. Une souris qui a reçu simultanément 0,1 c. c. de sérum et 0,2 c. c. de culture (dose plusieurs fois mortelle) dans le péritoine, a survécu sans présenter aucun malaise et a acquis une immunité solide.

L'autre souris infectée avec une dose mortelle a guéri après avoir reçu, 2 heures après, 1 centimètre cube de sérum spécifique. On obtient la même chose avec des cobayes. Il semble donc que, s'il s'agissait de préserver ou de guérir les chats de cette maladie, soit en les vaccinant par des injections sous-cutanées avec des cultures atténuées, soit en les traitant avec un sérum spécifique, il ne serait pas difficile de préparer l'un ou l'autre de ces produits.

Conclusions. — Toutes ces expériences nous montrent que le microbe étudié est bien celui qui a causé l'épidémie des chats qui nous a été signalée par M. Ed. Croux. C'est bien un cocco-bacille appartenant, par l'ensemble de ses caractères, au groupe du Colibacille, mais pouvant être facilement différencié du Coli typique par son immobilité, par l'aspect des cultures sur gélose, par le fait qu'il ne fait pas fermenter le saccharose sur gélose sucrée et, surtout, par son pouvoir spécifique sur les chats.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE SEPTEMBRE 1908. N° 9

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Nouvelle contribution à l'étude de la Vaccination des bovidés contre la tuberculose

PAR MM. A. CALMETTE ET C. GUERIN

Institut Pasteur de Lille.

Plusieurs expériences relatées dans un précédent mémoire [1] nous avaient convaincus de la possibilité de conférer aux jeunes bovins et aux bovins adultes une résistance très marquée à l'égard de l'infection tuberculeuse artificielle par les voies digestives. Cette résistance peut s'obtenir en faisant ingérer, au moyen d'une sonde œsophagienne et suivant une technique que nous avons décrite, des émulsions fines de bacilles tuberculeux d'origine bovine, virulents ou modifiés par le chauffage à 70°.

Une seule ingestion de bacilles *virulents*, à la dose de $0^{gr},05$ chez les jeunes bovins, ou de $0^{gr},25$ chez les bovins adultes, suffit en général à infecter assez légèrement ces animaux pour qu'après avoir réagi à la tuberculine pendant 1, 2 ou 3 mois, ils cessent de réagir et deviennent capables de résister pendant plusieurs mois à des ingestions massives ou répétées de doses de bacilles tuberculeux sûrement infectantes pour les témoins.

On doit se demander s'il s'agit là d'une immunité réelle, de durée plus ou moins longue, affirmée non seulement par l'absence de réaction à la tuberculine, — qui n'est pas suffisamment démonstrative, — mais aussi par la non persistance de bacilles virulents dans les différents groupes ganglionnaires de l'organisme de ces animaux.

1. Ces *Annales*, juillet 1907, p. 525.

Pour élucider cette question de capitale importance, nous avons choisi, parmi ceux de nos bovins qui avaient servi aux expériences de vaccination par les voies digestives, 4 génisses bretonnes de 18 mois, auxquelles nous avions fait ingérer 2 doses de $0^{gr},10$ et $0^{gr},25$ de bacilles virulents d'origine bovine les 11 août et 31 octobre 1906. Du 3 au 23 juillet 1907, 8 mois après la dernière ingestion bacillaire, aucun de ces animaux n'ayant réagi à la tuberculine, nous leur avons fait absorber, à 5 jours d'intervalle, 5 doses successives de $0^{gr},10$ de bacilles finement émulsionnés (soit $0^{gr},50$ au total).

Soumises à l'épreuve tuberculine les 11 septembre et 10 octobre suivants, aucune de ces génisses ne présenta d'élévation de température.

Nous décidons d'en sacrifier 2 à la fin du 3ᵉ mois, et les 2 autres à la fin du 6ᵉ mois après l'épreuve.

Des témoins d'autres expériences nous avaient montré que les bovins neufs, infectés dans les mêmes conditions par l'ingestion de doses successives suffisamment rapprochées, et sacrifiés plus tard à des intervalles variables de 1 à 6 mois, contractent toujours des lésions tuberculeuses, au moins ganglionnaires, souvent ganglionnaires et pulmonaires, virulentes pour le cobaye.

Les deux premières génisses (nᵒˢ 79 et 98) abattues à la fin du *troisième mois*, le 23 octobre 1907, ont tous les organes parfaitement sains. On ne relève, ni dans les différents groupes ganglionnaires, ni dans les poumons, aucun tubercule. Les ganglions mésentériques, bronchiques, médiastinaux et rétropharyngiens sont prélevés séparément, triturés et inoculés à 16 cobayes, sous la peau de la cuisse. Un seul prend la tuberculose et meurt le 82ᵉ jour. Il avait reçu l'émulsion de ganglions mésentériques. Tous les autres sont restés indemnes.

Les deux autres génisses (nᵒˢ 82 et 220) abattues à la fin du *sixième mois*, le 24 janvier 1908, sont trouvées également indemnes de toute lésion tuberculeuse apparente. Les différents groupes ganglionnaires, prélevés aseptiquement, triturés et émulsionnés, sont inoculés comme précédemment à 16 cobayes qui restent tous indemnes par la suite. Aucun d'entre eux n'a présenté la moindre adénite inguinale suspecte.

Donc les bacilles absorbés après les repas virulents d'épreuve,

chez les bovins antérieurement guéris d'une légère infection tuberculeuse d'origine digestive, sont *entièrement détruits* au bout de 4 à 6 mois et, déjà à la fin du 3e mois, il n'en subsiste que quelques-uns dans les ganglions mésentériques.

Cette constatation est surtout intéressante à retenir parce que nous verrons tout à l'heure qu'il en va tout autrement lorsque les bacilles d'épreuve sont introduits, non plus par le tractus digestif, mais par la voie veineuse.

Elle nous montre d'autre part que les ganglions mésentériques remplissent, à l'égard de l'infection tuberculeuse comme vis-à-vis de beaucoup d'autres infections d'origine intestinale, un rôle protecteur particulièrement efficace.

Nous espérons pouvoir bientôt en élucider le mécanisme.

Est-ce à dire que les bovins qui se sont ainsi débarrassés des bacilles virulents précédemment ingérés possèdent une aptitude suffisante à résister aux infections naturelles ou artificielles pour qu'on puisse les considérer comme *vaccinés ?*

Nous ne pourrions l'affirmer qu'en démontrant que ces animaux échappent par la suite à l'infection artificielle par voie sanguine, ou à l'infection naturelle par cohabitation étroite et prolongée avec d'autres bovidés porteurs de lésions tuberculeuses ouvertes, tandis que des bovidés neufs servant de témoins et placés dans les mêmes conditions prennent la tuberculose.

Or, nous avons essayé de réaliser cette dernière expérience en parquant en liberté dans une même étable, avec 4 bovins tuberculeux (porteurs de lésions ouvertes) et 10 témoins, 20 génisses âgées de six mois à un an, qui avaient ingéré à la sonde œsophagienne 0gr,50 de tuberculose bovine chauffée 10 minutes à 70° et, deux mois plus tard, 0gr,10 de tuberculose bovine virulente. Au bout de quatre mois, aucun des sujets vaccinés ne réagissait à la tuberculine et 6 témoins sur 10 fournissaient une réaction positive. Pendant ce temps les bovidés infectés succombèrent et il nous fut impossible de les remplacer. Tuberculinés de nouveau au sixième mois, nous constatâmes avec surprise qu'aussi bien dans le lot des vaccinés que dans celui des témoins, aucun animal ne réagissait plus. C'est donc que les témoins primitivement contaminés, mais n'ayant pas subi assez longtemps ou d'une manière

assez intime le contact avec les malades, étaient apparemment guéris. Une nouvelle tuberculination au huitième mois donna le même résultat. Par suite, il nous est impossible de tirer de cette expérience aucun enseignement utile au point de vue de la *durée de l'immunité* conférée par les ingestions vaccinantes, et il est nécessaire que l'épreuve soit renouvelée sur d'autres animaux, en aggravant les conditions de contamination.

Mais, en même temps que nous poursuivions les essais qui précèdent, nous décidions d'affecter six de nos bovidés anciennement vaccinés par les voies digestives, et deux bovidés *neufs*, à une autre expérience ayant pour objet de rechercher si les vaccinés sont capables de résister, 8 *mois* et 1 *an* après un repas infectant d'épreuve resté inoffensif, à l'inoculation *intraveineuse* de 5 milligrammes de bacilles virulents. C'est cette expérience, beaucoup plus démonstrative, que nous allons maintenant rapporter.

* * *

Dans notre précédent mémoire nous relations l'histoire de 7 vaches adultes qui, après avoir ingéré à diverses reprises soit des bacilles chauffés à 70°, soit des bacilles d'origine équine, soit des bacilles virulents d'origine bovine, avaient ultérieurement résisté à l'ingestion massive de 1 gramme de bacilles bovins virulents et finement émulsionnés. L'une de ces vaches (n° 7), sacrifiée 36 jours après ce repas infectant d'épreuve, était trouvée indemne de tuberculose. Ses différents groupes ganglionnaires furent inoculés à 28 cobayes. Tous restèrent indemnes, sauf un seul qui avait reçu le triturat des ganglions *mésentériques*. Ce sont les 6 autres vaches de cette série que nous avons réservées pour subir l'épreuve par inoculation *intraveineuse*. A aucun moment, depuis le 6 novembre 1906, date à laquelle elles ont fait leur dernier repas infectant avec 1 gramme de bacilles, elles n'ont présenté la moindre réaction tuberculinique.

Trois d'entre elles (n°s 2, 3 et 5) ont reçu le 6 juillet 1907, 8 *mois après ce dernier repas infectant*, 5 milligrammes de bacilles virulents (origine *lait*, de *Nocard*) dans la veine jugulaire, en même temps qu'une vache témoin du poids de 410 kilogrammes, préalablement éprouvée à la tuberculine et reconnue indemne.

Les 3 dernières (n°s 1, 4 et 6) reçurent également dans la veine jugulaire la même dose de bacilles virulents, le 6 novembre 1907, exactement *une année* après leur dernier repas infectant. Une autre vache neuve pesant 474 kilogrammes et indemne de tuberculose leur servit de témoin.

Chez les 2 témoins, l'évolution de la maladie fut identique. La température, restée sensiblement normale pendant les 11 et 13 premiers jours, s'éleva brusquement et se maintint aux environs de 40°,5, en même temps que des symptômes d'infection granulique aiguë se manifestaient : amaigrissement rapide, perte de l'appétit, respiration accélérée (40 à 45 par minute). Le premier témoin meurt le 29e jour, ayant perdu 75 kilogrammes. Le second succombe le 30e jour, ayant perdu 44 kilogrammes.

A l'autopsie on trouve chez tous deux les poumons farcis d'innombrables tubercules gros comme une tête d'épingle, translucides pour la plupart, quelques-uns déjà caséeux au centre. Les lobes antérieurs sont totalement hépatisés. Les ganglions bronchiques et médiastinaux énormes, farcis de petits tubercules en voie de ramollissement. Tous les viscères abdominaux sont sains.

Par contre, les trois vaches de la première série et les trois de la seconde, après une courte période de malaise, restent en apparence parfaitement indemnes. Nous décidons de les sacrifier à des intervalles successifs de 6, 7, 8 et 10 mois après l'épreuve intraveineuse. Voici pour chacune d'elles un court résumé de leur observation avec les résultats de l'autopsie et des inoculations expérimentales consécutives.

Première série.

Vaches éprouvées par injection intraveineuse 8 mois après la dernière ingestion virulente.

Vache n° 2. — 36 heures après l'injection intraveineuse de 5 milligrammes de bacilles virulents, la température commence à s'élever et atteint 40°, 5 le soir du 5e jour. Respiration très accélérée (40 à la minute). Toux fréquente, courte ; perte d'appétit. Puis la température s'abaisse et redevient normale le 11e jour. Nouvelle poussée fébrile le 13e jour, allant jusqu'à 40° le 17e, avec réapparition de la toux. Le 23e jour l'état général est satisfaisant. Tous les symptômes alarmants ont disparu. L'animal reste en parfaite santé jusqu'au jour de l'abatage fixé au 6 janvier 1908, juste

6 mois après l'épreuve. La veille, une injection de tuberculine ne provoque aucune réaction.

Autopsie. — Ganglions mésentériques normaux. Les coupes microscopiques n'y montrent ni tubercules ni bacilles. Ganglions bronchiques et médiastinaux volumineux, mais sans lésions visibles. Ganglions rétropharyngiens et poumons parfaitement sains.

4 cobayes inoculés sous la peau de la cuisse avec le triturat des ganglions mésentériques restent indemnes.

12 cobayes inoculés avec le triturat des ganglions bronchiques et médiastinaux deviennent tous tuberculeux.

Vache n° 3. — La température s'élève progressivement à partir de la 36e heure après l'inoculation virulente pour atteindre, le soir du 5e jour, 40°,4. Respiration accélérée (40 par minute). Toux fréquente. La température s'abaisse ensuite peu à peu et revient à la normale le 10e jour, en même temps que les symptômes s'amendent. Le 15e jour, nouvelle poussée fébrile avec maximum de 39°, 4 le 18e jour. Retour à la normale le 22e jour. Depuis cette époque et jusqu'au jour de l'abatage, le 6 février 1908, 7 mois après l'épreuve, la santé de l'animal demeure parfaite. De 540 kilogrammes au début de l'expérience, son poids s'est accru jusqu'à 595 kilogrammes.

Tuberculinée 24 heures avant la mort, cette vache ne présente aucune réaction.

Autopsie. — Ganglions mésentériques plus volumineux qu'à l'état normal, durs, avec îlots fibreux dans la couche corticale mais sans tubercules caséifiés ni calcifiés. Les coupes microscopiques n'y montrent ni bacilles ni cellules géantes. Ganglions bronchiques et médiastinaux de même apparence. Les poumons sont complètement sains : on n'y perçoit aucune trace de lésions tuberculeuses récentes ou anciennes.

16 cobayes sont inoculés avec les groupes ganglionnaires mésentériques, rétro-pharyngiens, bronchiques et médiastinaux.

Les 8 qui ont reçu le triturat des deux premiers groupes restent indemnes. Les 4 inoculés avec les ganglions bronchiques et 2 sur 4 inoculés avec les ganglions médiastinaux deviennent tuberculeux.

Vache n° 5. — La température s'élève seulement le 4e jour après l'inoculation intraveineuse (40° 2). Accélération de la respiration. Râles humides sur toute la hauteur des deux poumons. Toux fréquente. Le 10e jour la température redevient normale et la santé parfaite jusqu'au jour de l'abatage fixé au 15 mai 1908, un peu plus de 10 mois après l'épreuve. Poids : 540 kilogrammes au début ; 550 le jour de la mort. Aucune réaction à la tuberculine la veille de l'abatage.

Autopsie. — Tous les organes sont parfaitement sains et ne montrent pas la moindre lésion ancienne ou récente.

4 cobayes inoculés sous la peau de la cuisse avec le triturat des ganglions mésentériques restent indemnes. 12 autres inoculés avec les triturats des glanglions bronchiques et médiastinaux deviennent tuberculeux.

Deuxième série.

Vaches éprouvées par inoculation intraveineuse 12 mois après la dernière ingestion virulente.

Vache n° 6. — La température s'élève le soir du 4e jour (40°,1) et atteint son maximum le soir du 5e (40°, 2).

Diminution de l'appétit. Légère accélération de la respiration et quelques efforts de toux. Le 8e jour, l'état général est redevenu parfait et l'animal reste en bonne santé pendant 8 mois, sa température prise matin et soir demeurant normale. Le 1er juin 1908, celle-ci s'élève à 39°, 8. Le 3 juin, on constate une induration assez accusée des deux quartiers gauches de la mamelle. (Or cette vache arrivée à l'Institut plus de deux ans auparavant, le 12 mars 1906, était à bout de lait, avait les mamelles intactes et ne réagissait pas à la tuberculine). Très rapidement les symptômes s'aggravent du côté du pis. Les 6 et 9 juin les deux autres quartiers se prennent à leur tour. Le 18, la mamelle a acquis un volume considérable; elle est dure, très sensible. L'état général devient moins bon; l'animal maigrit : il a perdu 17 kilogrammes depuis le 1er juin. On extrait par pression d'un quartier quelques gouttes de muco-pus dont l'examen microscopique montre une véritable purée de bacilles tuberculeux.

Nous décidons l'abatage qui a lieu le 26 juin. Cette vache, de très belle apparence et très grasse, pèse 710 kilogrammes.

Autopsie. — Mammite suraiguë des 4 quartiers. Ganglions rétromammaires infiltrés de tubercules en voie de caséification. Organes abdominaux parfaitement sains. Sur les poumons on trouve une vingtaine de tubercules petits, manifestement d'origine récente. Quelques-uns commencent à se caséifier au centre. Ganglions bronchiques et médiastinaux un peu augmentés de volume, mais sans lésions tuberculeuses visibles à l'œil nu.

Voici donc un animal rendu manifestement très résistant à l'infection tuberculeuse puisqu'il a supporté victorieusement une épreuve qui fait périr les témoins par granulie aiguë en un mois. Il reste en parfaite santé apparente pendant 8 mois. Puis, tout à coup, sans doute au moment où la résistance qui lui avait été artificiellement conférée s'épuise, — comme il a conservé dans son organisme des bacilles vivants, — ceux-ci (peut-être sous l'influence d'un rut passager) créent tout à coup dans la mamelle une lésion grave. Nous voyons alors évoluer spontanément en quelques jours une mammite tuberculeuse d'origine sûrement vasculaire, car cette vache, parfaitement isolée, ne se trouvait exposée à aucune cause de contagion venant de l'extérieur.

C'est la première fois, croyons-nous, qu'une expérience de ce genre — d'ailleurs involontaire — se trouve réalisée. Jus-

qu'à présent on n'avait jamais réussi à provoquer l'apparition d'une mammite tuberculeuse autrement que par l'inoculation ou l'insertion directe de bacilles dans les trayons.

L'accident survenu à cette vache nous détermina à sacrifier immédiatement les deux derniers animaux de notre seconde série, car nous sommes fondés à croire que, chez eux aussi, l'immunité passagère conférée par l'ingestion d'épreuve du 6 novembre 1906 a disparu.

On soumet donc les nos 1 et 4, le 26 juin 1908, à l'épreuve de la tuberculine. Le no 1 réagit violemment (2°, 2). Le no 4 ne réagit pas.

L'abatage de ces deux vaches a lieu le 27 juin. Voici leurs observations et leurs protocoles d'autopsie :

Vache n° 1. — Dès la huitième heure après l'inoculation intraveineuse de 5 milligrammes de bacilles, le 6 novembre 1907, on note une ascension de température qui atteint son maximum le 5e jour (40°, 4), en même temps que se manifestent quelques symptômes peu graves du côté des poumons : respiration légèrement accélérée; quelques efforts de toux. Le 8e jour, la température est redevenue normale. Depuis ce moment jusqu'au jour de l'abatage (27 juin 1908), 7 mois et demi après l'épreuve, la santé reste parfaite. Poids : 550 kilogrammes.

Autopsie. — Excellent état d'embonpoint. Organes abdominaux parfaitement sains. Les poumons ne portent aucune trace de lésions tuberculeuses récentes ou anciennes. Mais le ganglion bronchique gauche, un peu augmenté de volume, montre sur la coupe un foyer tuberculeux caséifié, gros comme un grain de chènevis, et qui justifie la réaction tuberculinique présentée par cet animal avant sa mort. Les ganglions médiastinaux sont indemnes.

4 cobayes sont inoculés avec le triturat des ganglions mésentériques et quatre cobayes avec celui des ganglions bronchiques. Trente jours plus tard ces derniers seuls présentent une adénite caractéristique. Les autres restent indemnes.

Vache n° 4. — Ascension de température à partir de la 24e heure après l'inoculation intraveineuse. Maximum le 4e jour (41°, 6) avec respiration légèrement accélérée et un peu de toux. Le 8e jour, retour à la normale. Santé parfaite jusqu'au 27 juin 1908, 7 mois et demi après l'épreuve, date de l'abatage. Poids 605 kilogrammes.

Autopsie. — Animal en excellent état d'embonpoint. On ne découvre aucune trace de lésion tuberculeuse récente ou ancienne dans les organes thoraciques ou abdominaux. Les différents groupes ganglionnaires soigneusement examinés ne présentent rien de suspect.

16 cobayes sont inoculés sous la peau de la cuisse avec le triturat des ganglions mésentériques, bronchiques et médiastinaux. 8 d'entre eux, qui avaient reçu l'émulsion des ganglions bronchiques ou médiastinaux, présen-

tent l'adénite caractéristique 30 jours après. Les autres sont indemnes.

En résumé, ces six vaches adultes, qui avaient manifestement acquis une résistance très grande à l'infection par la voie digestive, ont supporté l'épreuve particulièrement grave d'inoculation intraveineuse sans se tuberculiser tout d'abord, tandis que les deux vaches témoins, inoculées en même temps avec la même dose de bacilles (5 milligrammes), ont succombé en 29 et 30 jours avec des lésions de granulie aiguë. Les bacilles virulents introduits dans leur circulation sanguine se sont montrés, chez elles, incapables de produire des tubercules aussi longtemps que l'immunité partielle qui leur avait été conférée a persisté, c'est-à-dire pendant 7 à 8 mois après l'épreuve, ou pendant 18 à 20 mois après la dernière ingestion virulente.

Mais ces bacilles, drainés ou collectés par les groupes ganglionnaires les plus voisins du poumon (bronchiques et médiastinaux), y sont restés indéfiniment vivants sans que leur présence se signalât par aucun trouble physiologique et *sans même qu'elle fût révélée par la réaction tuberculinique*, jusqu'au moment où, l'immunité ayant peu à peu disparu, ils ont pu se multiplier et constituer des lésions tuberculeuses. L'exemple des vaches n° 6 et n° 1 de la seconde série est tout à fait démonstratif à cet égard. Si nous avions attendu davantage avant d'abattre les quatre autres vaches des deux séries, il est infiniment probable que nous eussions assisté à des réveils d'infection analogues, puisque toutes conservaient encore dans leurs ganglions de la cavité thoracique des bacilles vivants capables de tuberculiser le cobaye.

Il semble donc qu'on ne puisse prétendre en aucune manière conférer aux bovidés l'immunité contre la tuberculose par inoculation *intraveineuse* d'une petite quantité — si faible soit-elle — de bacilles vivants provenant de cultures artificielles. Ceux-ci peuvent rester inoffensifs pour l'organisme pendant de longs mois et n'y développer aucune lésion tuberculeuse ; mais l'animal qui les porte ne s'en débarrasse pas, et sous les influences diverses capables, soit de triompher d'une immunité antérieurement acquise, soit de diminuer la résistance normale du sujet, ils sont susceptibles d'engendrer tout à coup des désordres plus ou moins graves.

Les expériences relatées ci-dessus nous font clairement

comprendre pourquoi les méthodes de vaccination des bovidés proposées par *Von Behring* depuis 1902 ne mettent que pour un temps très limité ces animaux à l'abri des infections artificielles ou spontanées. *Elles ne confèrent pas une véritable immunité*, parce que les bacilles de cultures artificielles, introduits par voie veineuse dans le torrent circulatoire, *au lieu d'être résorbés, restent en état de vie latente dans les ganglions de la cavité thoracique.*

Par contre, lorsque ces mêmes bacilles sont introduits, comme nous l'avons indiqué, à l'état d'émulsion fine *par la voie digestive*, — soit atténués par le chauffage, soit vivants mais en quantité insuffisante pour infecter rapidement l'organisme, — *ils se résorbent* et sont détruits en totalité dans les ganglions mésentériques en un temps relativement court, qui ne paraît pas excéder 4 à 6 mois.

Cette résorption totale des bacilles confère incontestablement aux bovidés un état d'immunité relative, puisque non seulement ils résistent après 8 et 10 mois aux épreuves d'ingestions massives et répétées de bacilles vivants et virulents, mais que, *même après l'épreuve particulièrement grave d'inoculation intraveineuse effectuée* 8 *à* 12 *mois après le dernier repas vaccinant*, ils gardent encore pendant 7 à 8 mois au moins toutes les apparences d'une parfaite santé, alors que les témoins succombent en quelques semaines à la granulie aiguë.

Nos expériences montrent que cette immunité relative, conférée aux bovidés par les voies digestives, peut être affirmée et même mesurée en quelque sorte par la manière dont les animaux réagissent à l'épreuve d'inoculation intraveineuse.

Alors qu'à la suite de celle-ci les animaux neufs, servant de témoins, ne manifestent aucune réaction thermique pendant les 10 ou 12 premiers jours, on constate au contraire que la température des vaccinés s'élève presque immédiatement de la 36e heure au 4e jour après l'inoculation, en s'accompagnant de toux et de troubles respiratoires.

Cette élévation de température suit une courbe progressivement ascendante, puis descendante. Elle dure au total de 6 à 10 jours, puis les phénomènes dyspnéiques disparaissent et tout rentre dans l'ordre.

Il est remarquable d'observer que la fièvre et la toux sont

d'autant plus prolongées et plus violentes que la résistance des animaux est plus marquée (vaches 2, 3 et 5 de la première série).

Au contraire, chez la vache n° 6 qui fit une mammite tuberculeuse 8 mois après l'épreuve, la fièvre et les symptômes pulmonaires ne durèrent que 4 jours.

Nous avions d'abord pensé que cette réaction fébrile des bovidés supposés vaccinés n'était autre chose qu'une réaction tuberculinique analogue à celle que l'on obtient en injectant une forte dose de tuberculine, ou des bacilles morts, dans les veines d'un animal tuberculeux. Mais nous avons dû nous convaincre que cette interprétation n'est pas exacte, car nous avons injecté jusqu'à $0^{gr},50$ de tuberculine pure (précipitée par l'alcool) dans les veines d'autres bovidés vaccinés comme les précédents par les voies digestives, sans observer chez eux la moindre élévation de température.

Il s'agit donc bien ici d'une réaction spéciale à l'organisme d'animaux qui ont acquis un certain degré d'immunité et sont devenus capables d'empêcher les bacilles introduits dans leur circulation sanguine de créer dans leurs tissus des lésions tuberculeuses.

RÉSISTANCE DES ANIMAUX TUBERCULEUX OU TUBERCULINÉS AUX RÉINFECTIONS TUBERCULEUSES

Robert Koch a observé le premier que, lorsqu'on inocule une petite quantité d'émulsion de bacilles tuberculeux vivants sous la peau d'un cobaye *déjà tuberculeux*, cette seconde inoculation produit un abcès local qui ne tarde pas à se vider et l'ulcération qui lui succède guérit, tandis que la première inoculation continue à produire ses effets, quoique avec plus de lenteur. Cette importante constatation a servi de point de départ à ses travaux sur la *tuberculine*.

Au cours de nos expériences sur les bovidés, notre attention a été attirée sur des phénomènes analogues :

Nous avons vu que lorsqu'on inocule par voie intraveineuse 5 milligrammes de bacilles virulents d'origine bovine à une vache saine, celle-ci prend une tuberculose suraiguë à forme granulique, mortelle en 4 à 6 semaines.

Par contre, si la même inoculation est faite, également par voie veineuse, à un bovidé *réagissant à la tuberculine*, jamais on ne voit apparaître chez lui de symptômes graves : il réagit

presque immédiatement, comme s'il avait reçu une injection de tuberculine puis, vingt-quatre heures après, sa température redevient normale et la tuberculose évolue chez lui sous forme *chronique*.

Il en est exactement de même si, au lieu de réaliser cette expérience sur des vaches tuberculeuses, on *prépare* des animaux *neufs* en leur injectant préalablement, à 6 ou 10 jours d'intervalle, deux ou trois grosses doses de tuberculine (0 gr. 50 de tuberculine précipitée par l'alcool) dans les veines. Les animaux ainsi *préparés* réagissent à la seconde (jamais à la première) ou à la troisième injection de tuberculine, *comme s'ils étaient tuberculeux*. La réaction, toujours très forte (2°,3 à 2°,7) apparaît chez eux dès la 5e heure et disparaît à la 12e. Si, quelques jours après la dernière injection tuberculinique, on leur injecte dans les veines 5 milligrammes de bacilles bovins virulents, en même temps qu'à des témoins non imprégnés de tuberculine, on constate que ces derniers ne font aucune réaction immédiate, mais présentent, douze à quinze jours plus tard, tous les signes d'une tuberculose suraiguë granulique, tandis que, chez tous les autres, l'introduction des bacilles est presque immédiatement suivie d'une forte fièvre qui dure 5 à 7 jours et rétrocède en même temps que s'installent chez eux des lésions de tuberculose à évolution lente.

Nous avons abattu, 60 jours après l'inoculation intraveineuse de 5 milligrammes de bacilles, trois vaches dont *deux* avaient été achetées *réagissant à la tuberculine* et *une* avait été *préparée par trois injections de tuberculine*, comme il est dit ci-dessus.

Chez les deux premières, en dehors de vieilles lésions tuberculeuses siégeant dans les ganglions mésentériques et médiastinaux, nous avons trouvé les poumons farcis de petits tubercules très fins dont quelques-uns atteignaient la grosseur d'un grain de chènevis; la plupart étaient encore translucides; les plus gros déjà caséeux au centre. C'étaient évidemment des lésions récentes produites par l'injection intraveineuse de bacilles.

Chez la troisième (préparée par la tuberculine), il n'y avait que des lésions pulmonaires absolument semblables aux précédentes, sans hépatisation des tissus environnant les tubercules.

Il est donc hors de doute que *les animaux tuberculeux, et*

aussi les animaux sains préparés par des injections massives de tuberculine, sont incomparablement plus résistants que les animaux neufs à l'inoculation intraveineuse d'épreuve.

On peut supposer que les bovidés injectés par voie sous-cutanée avec des bacilles bovins ou humains (*Lignières*), ou sous la peau desquels on introduit des sacs de roseau collodionné contenant des cultures de tuberculose (*Heymans*), acquièrent, par un mécanisme identique, une résistance marquée à l'infection tuberculeuse : les bovidés ainsi préparés gardent plus ou moins longtemps les apparences d'une bonne santé ; ils perdent fréquemment l'aptitude à réagir à la tuberculine, mais ils n'en restent pas moins *porteurs de bacilles* (libres ou encapsulés) et *susceptibles de contracter une tuberculose à forme chronique*. On ne saurait donc admettre qu'il s'agit là d'une véritable *immunité*.

De multiples expériences nous ont montré qu'on observe des phénomènes semblables chez les bovidés artificiellement ou spontanément tuberculisés par les voies digestives, lorsqu'on vient à leur inoculer ultérieurement une culture de tuberculose *sous la peau*. Il se forme alors un abcès au niveau du point d'inoculation, mais les ganglions voisins ne se prennent pas et l'abcès guérit lorsqu'il s'est vidé à l'extérieur.

On constate fréquemment des faits analogues en clinique humaine. Chacun sait qu'une tuberculose locale suppurée, survenant chez un tuberculeux pulmonaire, améliore l'état du malade et accroît considérablement sa résistance. Inversement, il est rare que les sujets chez lesquels la tuberculose pulmonaire évolue avec une marche rapide aient été atteints antérieurement de suppurations ganglionnaires, osseuses ou cutanées, hormis les cas où une opération chirurgicale inopportune a pu provoquer une infection sanguine. C'est une notion courante, à l'Hôpital Saint-Louis, qu'un quart environ des lupiques présentent des signes d'auscultation caractéristiques de la tuberculose pulmonaire et que celle-ci évolue généralement chez eux avec une très grande lenteur ; aussi, beaucoup de lupiques deviennent-ils très vieux.

Si l'on veut bien se rappeler que certains cliniciens ont prétendu obtenir, chez les malades phtisiques, de réelles améliorations à la suite d'inoculations sous-cutanées de cultures de

tuberculose bovine virulente (*F. Klemperer*) ou de bacilles morts (*Maragliano*), ou de cultures de tuberculose humaine modifiée par passages dans l'organisme d'animaux à sang froid (crocodile) (*Moeller*), les faits expérimentaux qui précèdent sont de nature à justifier dans une certaine mesure leurs assertions.

Mais une telle méthode thérapeutique est assurément condamnable. Elle l'est d'autant plus que nous possédons dans la tuberculine un moyen aussi efficace et moins dangereux permettant d'atteindre le même but.

***

CONCLUSIONS

1° Par l'ingestion de bacilles tuberculeux virulents ou modifiés par le chauffage, on peut conférer aux bovidés jeunes ou adultes une *immunité relative*. Lorsqu'on éprouve ultérieurement la résistance des animaux ainsi préparés, en leur faisant ingérer une dose massive de bacilles virulents sûrement capable d'infecter les témoins, on constate qu'au bout de 4 à 6 mois ils restent indemnes, qu'ils ne réagissent pas à la tuberculine et que leurs ganglions mésentériques, médiastinaux, bronchiques et rétropharyngiens ne recèlent plus de bacilles tuberculeux : l'inoculation de ces ganglions au cobaye reste inoffensive. Mais aucune expérience d'assez longue durée ne permet encore d'affirmer que ces animaux soient capables de résister au delà d'une année aux infections artificielles par voie digestive ou à l'infection naturelle par cohabitation ;

2° Par contre, lorsque 8 mois ou 1 an après avoir résisté à une infection massive par les voies digestives, des bovidés supposés ainsi vaccinés reçoivent, *en injection intraveineuse*, une dose de bacilles tuberculeux virulents suffisante pour tuer les témoins en 4 à 5 semaines par granulie aiguë, on trouve que les vaccinés, après une courte période de malaise, gardent pendant 6 à 8 mois toutes les apparences d'une santé parfaite. Ils *conservent* néanmoins, *dans leurs ganglions bronchiques et médiastinaux, des bacilles virulents capables de tuberculiser les cobayes*. Ces bacilles ne manifestent aucunement leur présence, pas même par la réaction positive à la tuberculine.

Mais lorsque, après un délai variable de 6 à 8 mois environ,

l'immunité de l'animal disparaît, ces bacilles deviennent susceptibles de créer des lésions tuberculeuses ;

3° Les bacilles tuberculeux de culture, introduits *par les voies digestives*, finissent donc, après un temps plus ou moins long, par se résorber dans les ganglions mésentériques lorsqu'ils n'y sont pas en nombre suffisant pour y créer des lésions, tandis qu'introduits *par voie intraveineuse* ils restent *vivants* et *virulents* dans les groupes ganglionnaires qui desservent les organes thoraciques ;

4° Les animaux *tuberculeux* ou *sensibilisés à la tuberculine* par deux ou trois injections massives de cette substance dans les veines présentent une résistance très grande aux réinfections ou aux infections tuberculeuses graves, naturelles ou artificielles, alors même que celles-ci sont réalisées par voie intraveineuse.

Cette résistance, quoique moindre, paraît être de même nature que celle que confèrent les vaccinations soit par inoculation intraveineuse de bacilles humains ou bovins (*Behring, Koch* et *Schültz*) ou homogènes (*Arloing*), soit par inoculation sous-cutanée de ces mêmes bacilles (*Lignières, Arloing*), soit par insertion sous la peau de sacs en roseau collodionné contenant des cultures de tuberculose bovine ou humaine (*Heymans*).

Il ne s'agit là en aucune manière d'une immunité vraie, puisque les animaux ainsi vaccinés, bien qu'insensibles à la réaction tuberculinique, restent *porteurs de bacilles vivants et virulents* et que ceux-ci sont capables, lorsque la résistance vient à fléchir, de créer dans l'organisme de ces mêmes animaux des lésions graves [1], et puisque, d'autre part, ainsi que *Roux* et *Vallée* l'ont démontré, la vaccination par voie veineuse ou sous-cutanée ne protège pas contre l'infection intestinale.

Les faits que nous avons expérimentalement étudiés confirment les observations des cliniciens qui attestent la rareté des tuberculoses pulmonaires à marche rapide chez les sujets antérieurement atteints de tuberculoses locales suppurées ou de tuberculoses ganglionnaires en apparence guéries.

1. Dans l'expérience de *Melun* (1906), chez les animaux vaccinés avec le bovovaccin de Behring, les bacilles de l'inoculation d'épreuve *n'avaient pas encore été résorbés après six mois* (*Vallée* et *Rossignol, Moussu*).

L'Aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets.

Par M. A. TRILLAT

(Avec les pl. VIII et IX.)

PREMIÈRE PARTIE

Formation des dépôts et mécanisme de la fixation de résidu aldéhydique à la matière colorante du vin.

HISTORIQUE

La présence de dérivés aldéhydiques dans les vins a été observée pour la première fois par Doebereiner en 1821 : l'identification de l'aldéhyde acétique ne semble avoir été faite que plus tard par Liebig, en 1835[1]. Ce produit fut ensuite signalé dans le vin par Chancel, puis par Mayne-Lahens[2] qui le trouva aussi dans le vinaigre.

Maumené[3] a maintes fois constaté cette présence d'aldéhyde. Dans son ouvrage sur les maladies du vin, Pasteur[4] admet aussi l'existence d'aldéhyde acétique. Berthelot[5] fait mention de composés aldéhydiques dérivés d'alcools polyatomiques formés au cours de l'oxydation du vin et des boissons fermentées. Depuis ces observations, un grand nombre d'auteurs ont reconnu que l'aldéhyde acétique existait dans les vins, le vinaigre, les eaux-de-vie et les liqueurs ; son dosage est devenu d'une pratique courante dans les laboratoires.

On voit par cette courte bibliographie que la notion de l'existence de l'aldéhyde acétique dans les vins et eaux-de-vie est connue depuis longtemps.

Mais l'attention des œnologues n'a guère été fixée sur le rôle joué par cette aldéhyde, au cours des diverses modifications subies par le vin. Berthelot fut un des premiers qui le fit entrevoir dans sa théorie sur la formation du bouquet au cours du vieillissement. Il fut un peu mieux précisé à la suite d'expériences qui mirent en évidence l'action énergique de l'aldéhyde acétique sur les

1. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, t. IX, p. 513.
2. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, t. XXVII, p. 37.
3. *Traité du Travail des vins*, 1874.
4. *Etude sur le vin*, 1866.
5. *C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1867, p. 983.

matières colorantes du vin rouge. On sait que cette matière colorante du vin est constituée par une substance très oxydable à l'air et les travaux de Pasteur[1] ont démontré que l'abondance des dépôts dans le vin soutiré, indépendamment des dépôts microbiens, était liée de la manière la plus directe avec une absorption d'oxygène. Rappelons que les expériences de Pasteur ont consisté à prouver que le vin rouge, à l'abri de l'air, pouvait se conserver indéfiniment, sans formation de dépôt.

Mais cette absorption d'oxygène ayant toujours eu pour effet d'aldéhydifier plus ou moins en même temps l'alcool vinique, on pouvait se demander si ces dépôts, pour une partie, ne provenaient pas de la combinaison de la matière colorante avec l'aldéhyde acétique comme on le verra plus loin.

On sait, en effet, par de nombreuses expériences, que l'aldéhyde acétique se forme facilement dans le vin sous l'influence du soutirage, d'une exposition, ou d'une agitation à l'air, ou bien au cours de son vieillissement ou des maladies, c'est-à-dire dans des circonstances qui accompagnent généralement la précipitation du dépôt.

*
* *

L'action des aldéhydes sur les vins rouges fut signalée par moi pour la première fois en 1891[2]. Comme démonstration j'indiquais qu'une dose de 1/4000 de formaldéhyde précipitait la matière colorante des vins rouges avec laquelle elle formait une laque insoluble.

A la suite de ces observations, M. Jablin-Gonnet entreprit, sur mes conseils, une série d'essais dans le but d'utiliser cette réaction pour la recherche des matières colorantes étrangères du vin[3].

Plus récemment, M. Ferdinand Jean a appliqué cette méthode au dosage, non seulement de la matière colorante du vin rouge, mais en général à celui des matières colorantes d'origine végétale[4].

En 1898, M. Martinand[5] a trouvé que d'autres aldéhydes

1. *Etude sur le vin*, p. 117.
2. *C. R. Acad. des Sc.*, août 1891. *Journ. de Pharm. et de Chimie*, 1892, p. 341.
3. *Journ. de Pharm. et de Chim.* 1892, p. 453.
4. *Ann. de Chimie analytique*, 1906.
5. *Revue de Viticulture*, t. IX, p. 306.

telles que l'aldéhyde acétique et les autres aldéhydes de la série grasse et même de la série aromatique, provoquaient les mêmes précipitations de la matière colorante du vin rouge que la formaldéhyde; il fit la remarque que les vins rouges se cassaient par une légère addition d'aldéhyde acétique, comme je l'avais observé pour l'aldéhyde formique. Il émit l'hypothèse que la présence de l'aldéhyde acétique pouvait bien ne pas être étrangère à la formation des dépôts. Dans la fermentation normale, d'après cet auteur, il ne se produit pas assez d'aldéhyde pour décolorer le vin, mais il s'en formerait toujours assez pour provoquer un dépôt de matière colorante.

Enfin, M. Pottevin, à la suite de plusieurs expériences, exprimait aussi l'opinion qu'il pouvait bien y avoir une relation de cause à effet entre le dépôt qui se forme au cours de la casse du vin et l'augmentation en aldéhyde produite pendant la maladie.

Au moment où j'ai entrepris cette étude on connaissait donc déjà, à la suite de mes propres observations et de celles de Martinand et de Pottevin postérieures aux miennes, l'action des aldéhydes sur la matière colorante du vin rouge.

Etant données les propriétés de l'aldéhyde acétique de s'acétifier à l'air, de se combiner avec les alcools pour former des acétals, de se résinifier sous diverses influences, on pouvait se demander aussi si son rôle se bornait uniquement à insolubiliser les matières colorantes et ne se manifestait pas encore, notamment dans la production du bouquet.

D'autre part, la formation de l'aldéhyde acétique dans le vin dépend, nous le verrons plus loin, d'une foule de circonstances qui influent non seulement sur ses proportions, mais sur l'ordre et la marche de ces combinaisons.

⁂

J'ai donc cru combler une lacune en étudiant d'une façon plus précise ce rôle prévu, mais encore mal défini, de l'aldéhyde acétique, en établissant par de nombreuses expériences la part qu'on peut définitivement lui attribuer dans les modifications du vin, telles que la précipitation, le vieillissement et les altérations.

Division.— Après avoir établi le choix d'une méthode de dosage de l'aldéhyde acétique, j'étudierai, dans la *première partie* de ce

travail, l'action générale de l'aldéhyde sur le vin ; l'analogie existant entre les dépôts normaux et les dépôts provoqués par aldéhydification artificielle; leur composition chimique et le mode de formation de ces dépôts.

Dans la *deuxième partie*, j'examinerai l'origine de l'aldéhyde acétique dans les vins et les influences qui font varier ses proportions, telles que l'aération, l'agitation, la température, la composition du vin, les altérations, etc.

La *troisième partie* sera consacrée à l'étude du rôle de l'aldéhyde au cours des modifications du vin, comme le vieillissement et les maladies.

Choix d'une méthode pour le dosage de l'aldéhyde acétique.

Le dosage de l'aldéhyde étant une des bases de ce travail, j'ai porté toute mon attention sur le choix d'une bonne méthode. Les erreurs que l'on peut commettre dans ce dosage sont si nombreuses que je crois indispensable de décrire le mode opératoire que j'ai adopté au cours des essais. Des exemples récents[1] prouvent en effet que des chimistes expérimentés peuvent, pour le même cas, obtenir des chiffres variant du simple au quintuple. J'estime donc que mes observations pourront être de quelque utilité.

Les trois procédés les plus recommandables sont les suivants : 1° procédé au bisulfite de rosaniline; 2° procédé au chlorhydrate de métaphénylène-diamine; 3° procédé au phénol de MM. Barbet et Jeandrier.

Le premier est utilisé surtout en France ; le deuxième l'est plus spécialement en Suisse et en Allemagne; l'usage du troisième est plus limité[2].

Toutes ces méthodes reposent sur des évaluations colorimétriques; les deux premières notamment donnent lieu à des critiques diverses qui peuvent se résumer ainsi :

1° Les colorations sont communes à toutes les aldéhydes de la série grasse et de la série aromatique et à la plupart de leurs dérivés comme les acétals;

2° Pour une même aldéhyde, il n'existe aucune proportion-

1. *Moniteur scientifique*, 1907 : Sur la question des eaux-de-vie et alcools, par M. Gardrat.

2. *Bullet. de l'Assoc. des Chimistes de sucrerie*, 1906, p. 251.

nalité entre le temps d'apparition de la coloration, son intensité et la teneur en aldéhyde;

3° Dans les comparaisons colorimétriques avec des types préparés à l'avance, les évaluations sont inexactes si ces types et les distillats à essayer n'ont pas exactement le même degré alcoolique : par exemple, si on dose l'aldéhyde dans un distillat à 5 degrés d'alcool avec un type de comparaison d'un degré différent, les indications seront défectueuses au point de donner des écarts considérables;

4° Les procédés en usage ne tiennent pas compte de l'aldéhyde provenant de l'oxydation de l'alcool au cours du dosage.

Pour diminuer dans la limite du possible ces causes d'erreurs, j'ai opéré de la manière suivante :

Après avoir expérimenté la valeur comparative de ces méthodes, j'ai adopté la plus ancienne, celle au bisulfite de rosaniline avec la formule donnée par M. Gayon.

Les distillations pour les dosages les plus délicats étaient effectués sur 100 c. c. de liquide, dans des ballons de 200 c. c. de capacité, dans lesquels on faisait passer un courant d'acide carbonique. Le distillat, soit 50 c. c., était ramené à son volume primitif, on en prenait le titre alcoolique et la comparaison colorimétrique avait lieu avec des types de même degré. Une première comparaison indiquait tout d'abord la richesse approximative en aldéhyde. On procédait ensuite à une deuxième évaluation définitive avec des types plus voisins.

La préparation de ces solutions types d'aldéhyde exige de grands soins. J'ai rejeté, pour la confection des types, l'emploi préconisé de l'aldéhydate d'ammoniaque : la solution s'altérant très vite, il est préférable d'aspirer dans une ampoule tarée de l'aldéhyde acétique pure refroidie par un mélange réfrigérant; l'ampoule est brisée dans le liquide alcoolique qui est ramené ensuite par dilution au titre voulu. Les comparaisons doivent se faire à la même température; la distillation dans le même temps et dans les mêmes appareils.

Sans l'observation rigoureuse de ces précautions, on risque fort d'avoir des résultats inexacts.

Dosage de l'aldéhyde totale. — La distillation du vin et de l'eau-de-vie, telle qu'on la pratique dans la méthode courante,

donne bien toute l'aldéhyde libre, mais elle ne fournit qu'une partie de l'aldéhyde combinée aux divers éléments du vin : alcool, matière colorante, acide sulfureux, etc.

En ajoutant des doses connues d'aldéhyde acétique à du vin rouge, on ne retrouve pas la totalité de l'aldéhyde introduite. Les acides organiques du vin ne décomposent donc que partiellement ces combinaisons.

Si, au moment de la distillation, on ajoute au vin ou à l'eau-de-vie une petite quantité d'acide minéral comme l'acide phosphorique, on trouve généralement[1] un excès d'aldéhyde acétique qui atteint parfois le tiers de la quantité trouvée dans la distillation simple.

C'est ce que met en évidence le tableau suivant :

TABLEAU I

	DOSAGE SANS ACIDE aldéhyde en millig. 0/00.	DOSAGE en présence d'acide phosphorique.
Vin rouge Aramont 1906	45	55
Vin rouge Aramont 1905	35	45
Bordeaux (vieux)	35	67
Bourgogne (vieux)	90	115
Vin blanc (vieux)	45	48
Eau-de-vie (1895)	364	407
Eau-de-vie (1896)	362	561
Xérès (15 ans)	276	418

Comme on le voit, les différences sont loin d'être négligeables et les chiffres d'aldéhyde totale donnés jusqu'à ce jour par les auteurs risquent fort d'être inexacts.

Dans les dépôts de vin en suspension dans l'eau, la distillation pratiquée en milieu neutre ou en milieu tartrique ne donne pas trace d'aldéhyde : par addition d'une petite quantité d'acide phosphorique, on régénère l'aldéhyde combinée.

1. Je dois cependant signaler que certains vins ou eaux-de-vie n'ont donné qu'une très légère différence : dans 2 cas, je ne l'ai même pas observée. Dans ces exemples, la simple distillation a suffi pour extraire toute l'aldéhyde récupérable.

Il résulte de ces expériences qu'il y aura lieu de modifier la méthode habituelle quand on voudra se rapprocher de la quantité théorique d'aldéhyde combinée aux éléments du vin. Dans ce cas, il suffit d'ajouter au vin ou aux liquides à distiller 3 à 4 c. c. pour 100 d'acide phosphorique officinal. Lorsqu'il s'agit d'évaluer l'aldéhyde dans les dépôts, on opère sur 2 grammes que l'on délaie dans 100 c. c. d'eau additionnée de 3 c. c. d'acide phosphorique.

I

FORMATION DE DÉPOTS SOUS L'INFLUENCE DE L'ALDÉHYDIFICATION DU VIN

Le rôle de l'aldéhyde acétique dans la formation des dépôts de vin ressort des considérations suivantes que j'examinerai successivement :

1° Les aldéhydes de la série grasse et les acétals ont une grande affinité chimique pour la matière colorante du vin rouge et provoquent, à faibles doses, la formation de précipités ;

2° Les dépôts peuvent être obtenus à l'abri de toute intervention de l'air, si le vin se trouve préalablement aldéhydifié ou additionné d'acétal éthylique ;

3° Ils présentent à l'examen microscopique les mêmes particularités que les dépôts normaux ;

4° Les dépôts de vins peuvent par distillation régénérer une petite quantité d'aldéhyde acétique.

§ I. *Action de l'aldéhyde acétique sur le vin.*

J'ai étudié directement l'action de l'aldéhyde acétique sur un grand nombre de vins rouges de provenances variées et dont on connaissait l'âge et la composition. Ils étaient additionnés, en séries, de doses croissantes d'aldéhyde acétique ; on notait l'apparition du dépôt dans chacun d'eux, comparativement à des témoins.

Le tableau suivant indique tout d'abord que la rapidité de la précipitation de la matière colorante du vin rouge croît avec la dose d'aldéhyde.

TABLEAU II

DILUTION de l'aldéhyde dans le vin.	OBSERVATIONS APRÈS							
	12 h.	24 h.	48 h.	3 jours.	8 jours.	15 jours.	30 jours.	90 jours.
1/500	Trouble.	Dépôt.						
1/1000	Trouble.	Dépôt.						
1/2000	Clair.	Clair.	Trouble.	Dépôt.				
1/5000	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Dépôt.			
1/10000	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Trouble.	Dépôt.	
1/20000	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Dépôt.	Dépôt.
1/40000	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Léger dépôt.	?
1/50000	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Léger dépôt.	Dépôt.
Témoins.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.	Léger dépôt.

Les mêmes phases de précipitation se reproduisent pour le même vin, mais si l'on fait varier l'origine du vin, les quantités d'aldéhyde nécessaires pour provoquer la précipitation ne sont plus les mêmes.

Les vins suivants, d'origines différentes, ont été additionnés de 1/5000 d'aldéhyde et ont donné lieu aux observations suivantes :

TABLEAU III

ORIGINE DU VIN	OBSERVATIONS après 8 jours.	OBSERVATIONS après 15 jours.	OBSERVATIONS après 1 mois.
Aramont (1906)........	Dépôt.		
Aramont (1907)........	Clair.	Clair.	Dépôt.
Beaujolais (1907).......	Dépôt.		
Vieux Beaujolais.......	Clair.	Clair.	Dépôt.
Vin d'Algérie (1902)....	Dépôt.		
Bordeaux (1898).......	Clair.	Clair.	Dépôt.
Vin de Savoie..........	Clair.	Dépôt.	

Dans les vins à faible degré alcoolique, comme les vins d'Aramont, la dose de 5 centigrammes par litre suffit pour provoquer la précipitation après 2 mois, et la dose de 10 cen-

tigrammes après 15 jours, les témoins restant indemnes de tout dépôt apparent.

Il résulte de ces expériences que la composition du vin, pour une dose déterminée d'aldéhyde acétique, a une grande influence sur la vitesse de l'apparition du dépôt.

A quoi tient cette différence ?

Evidemment à une plus ou moins grande solubilité du dépôt selon les circonstances. Pour le démontrer, j'ai fait varier pour un même vin le poids des éléments suivants : alcool, acidité, sucre et glycérine.

Le tableau IV indique ces variations, en même temps que les résultats correspondants obtenus.

TABLEAU IV

ÉLÉMENTS DE composition.	Vin.	Diminution du degré alcoolique.	Augmentation de la glycérine.	Diminution de l'acidité.	Augmentation du sucre.
Alcool	10°	2°	10°	10°	10°
Glycérine	7	7	15	7	7
Acidité	5	5	5	1	5
Sucre	2	2	2	2	10
Ces vins additionnés de 1/5000 d'aldéhyde acétique ont donné lieu aux observations suivantes :					
Apparition du dépôt après 8 j.	Néant.	Dépôt.	Néant.	Dépôt.	Néant.
Apparition du dépôt après 15 j.	Néant.		Néant.		Néant.

CONCLUSION

Le dépôt apparaît donc d'autant plus rapidement dans un vin que le degré alcoolique est moins élevé et qu'il est plus riche en sucre ou en glycérine.

Ces observations expliquent bien pourquoi un vin additionné d'aldéhyde est parfois très lent à précipiter. Ainsi des vins additionnés de 1/800 d'aldéhyde n'ont déposé qu'après 8 jours. Par contre, d'autres vins sont tellement sensibles à l'action de l'aldéhyde acétique qu'une dose de 1/80000 a suffi pour ame

ner un commencement de dépôt que ne présentaient pas les témoins après une période de 3 mois de contact (expérience faite sur des vins de coupage du Midi, titrant 7° et prélevés à Paris pendant les mois de juillet, août et septembre 1906).

On verra plus loin, à propos du rôle de l'aldéhyde acétique dans le vieillissement du vin, que les acétals, comme les aldéhydes dont ils dérivent, agissent sur la matière colorante du vin, avec laquelle ils forment à la longue les mêmes précipités dans les mêmes conditions.

§. 2. *Formation de dépôts à l'abri de l'air.*

La précipitation de la matière colorante du vin peut être obtenue, contrairement à la notion qu'on en avait, en dehors de toute intervention de l'air, si le vin est aldéhydifié artificiellement au moment de l'expérience.

a) On a répété l'expérience de Pasteur en faisant le vide, sur des vins contenus dans des ampoules de verre, dans lesquelles on faisait pénétrer ultérieurement quelques milligrammes d'aldéhyde acétique. Il faut avoir soin, dans cette expérience, de bien purger le liquide de ses moindres traces d'air.

Témoins et essais déposent dans le même temps.

b) Pour être plus sûr qu'il n'y a pas de traces d'air retenues par le liquide, on a répété les essais en présence d'acide carbonique et d'hydrogène. A cet effet, les échantillons de vin étaient placés sous une cloche à vide, dans laquelle on faisait passer un grand nombre de fois de l'acide carbonique ou de l'hydrogène. Au moyen d'un dispositif spécial, on introduisait l'aldéhyde acétique dans le vin. Dans tous les cas, il y a eu dépôt de matière colorante.

c) On remplit aux deux tiers une série de tubes à essais avec un vin rouge et on fait couler sur le vin une couche d'huile de 2 à 3 centimètres d'épaisseur, ce qui est suffisant pour intercepter le contact avec l'air pendant plusieurs heures. Au moyen d'un tube très effilé on introduit dans l'intérieur de la couche de vin quelques gouttes d'aldéhyde acétique; le dépôt se produit de la même façon que dans les tubes témoins exposés à l'air.

d) La formation de dépôt d'origine aldéhydique dans le vin est encore démontrée par la régénération de petite quantité d'aldéhyde provenant d'un traitement approprié des dépôts.

Les dépôts provenant des lies ou des raclages des parois de bouteilles, après avoir été broyés, sont lavés à l'eau distillée jusqu'à disparition complète d'alcool et ensuite séchés au bain-marie. On pèse 2 grammes de ces dépôts secs que l'on place dans un ballon de 100 c. c., contenant 50 c. c. d'eau distillée, additionnée de 2 grammes d'acide phosphorique. On procède ensuite au dosage de l'aldéhyde suivant la méthode que j'ai indiquée.

Le tableau suivant exprime les résultats obtenus en dosant l'aldéhyde des dépôts de lies et de bouteilles.

TABLEAU V

NATURE DES DÉPOTS	Aldéhyde exprimée en milligr. pour 1000 grammes de dépôt sec.
Lies de vin blanc provenant des entrepôts de Bercy.	134
Lies de vin rouge provenant des entrepôts de Bercy.	240
Dépôts de tonneau (vin rouge du Midi)............	180
Dépôts de bouteilles (vin de Savoie)...............	170
Dépôts de vin de Bordeaux.......................	60
Dépôts de vin de Bourgogne.......................	230
Dépôts de vin du Rhin............................	120

Ces chiffres ne sont pas négligeables, étant donnée, comme je l'ai montré plus haut, l'influence exercée à la longue par des doses infinitésimales d'aldéhyde acétique sur la matière colorante du vin rouge et qui s'explique, comme on le verra plus loin, par la grande différence des poids moléculaires des substances en jeu. Des résultats semblables sont donnés par la plupart des dépôts de vin, surtout dans les dépôts de vins vieux : ils indiquent donc qu'une fraction au moins de ces dépôts est d'origine aldéhydique.

§ 3. *Examen microscopique.*

Les précipités que l'on obtient par l'aldéhydification artificielle du vin offrent la plus grande analogie avec les dépôts normaux. Ils sont caractérisés par des granulations régulièrement

sphériques, d'une couleur brun-rouge et formant des dépôts adhésifs aux parois des récipients ; on distingue des feuilles translucides, sous forme de voile, renfermant des granulations et quelquefois des cristaux de tartre. La particularité, signalée par Pasteur, de la présence de granulations violettes dans les dépôts normaux, se rencontre souvent dans les dépôts artificiels.

Afin de rendre cette analogie plus frappante, j'ai comparé les dépôts artificiels de vin obtenus par l'addition d'une dose de 1/5000 d'aldéhyde acétique avec les dépôts que Pasteur décrit comme normaux et qui sont si bien représentés dans son ouvrage sur le vin.

Les figures 1, 2, 3, de la planche VIII sont des types de dépôts normaux de vins jeunes ou vieux, d'après Pasteur. Les figures 4, 5 et 6 de la même planche correspondent aux dépôts artificiels.

Dans les 2 cas on reconnaît les 3 états physiques bien différents des dépôts :

1° Granulations régulières, analogues à des cellules organisées, tant leur sphéricité est parfaite ;

2° Granulations en petits amas formant des couches adhésives d'un rouge brun;

3° Feuilles translucides colorées en rouge brun plus ou moins foncé.

La planche IX représente d'une part (fig. 1) les particularités, signalées par Pasteur, de granulations diversement colorées et que l'on trouve dans les dépôts normaux. La figure 2 représente les mêmes particularités que l'on trouve dans le dépôt provoqué par l'addition d'aldéhyde dans un vin rouge, après 48 heures.

Ainsi donc, comme l'examen chimique, l'examen microscopique tend aussi à prouver qu'une partie plus ou moins importante des dépôts considérés comme normaux de vin est constituée par des dépôts d'origine aldéhydique, dépôts qui augmentent chaque fois qu'une circonstance favorisera le développement de l'aldéhyde dans le vin.

§ 4. *Fixation du résidu aldéhydique à la matière colorante du vin.*

On peut se demander comment se fixe le résidu aldéhydique à la matière colorante du vin rouge qu'il insolubilise. Cela m'en-

traîne tout d'abord à donner quelques explications sur ce que l'on sait de la constitution de celle-ci.

La couleur du vin n'est pas due à une matière colorante unique. M. Armand Gautier a démontré qu'elle avait une composition différente selon le cépage. D'après lui, l'ensemble des matières colorantes retirées du vin formerait une famille naturelle de corps ayant une composition très analogue : ce sont des acides faibles, appartenant à la série aromatique par leurs propriétés et leur mode de dédoublement.

On connaît aujourd'hui plusieurs matières colorantes du vin. La première a été analysée en 1858 par Glenard [1]. M. A. Gautier a retiré des raisins de Carignan et de Grenache, cépages bien connus dans le midi, deux autres matières colorantes, répondant aux formules $C^{21} H^{20} O^{10}$ et $C^{23} H^{22} O^{10}$. Le Pinot, le Teinturier, donnent des matières colorantes analogues, tandis que celles provenant de l'Aramont est fort différente [2]. En même temps, on rencontre dans les vins, en petite quantité, une matière colorante azotée qui, d'après les analyses de M. A. Gautier, serait un dérivé amidé : ce serait la plus facilement entraînable par le collage.

M. A. Gautier, en dédoublant ces matières colorantes, a montré qu'elles correspondaient à des acides tétratomiques, renfermant par conséquent plusieurs groupements hydroxylés. Cette constitution se trouve vérifiée par les propriétés tinctoriales de la matière colorante du vin [3]. Il a été en effet prouvé que les couleurs se fixant sur les fibres textiles renfermaient soit le groupement phénolique OH, soit le groupement amidogène AzH.

***

La composition de la matière colorante du vin rouge, établie par M. A. Gautier, va me permettre d'expliquer le mécanisme de sa précipitation en présence d'une aldéhyde.

L'action précipitante des aldéhydes vis-à-vis des phénols et des composés à fonction amidogène a déjà été étudiée par plusieurs auteurs et j'ai publié moi-même des observations sur cette question [4].

1. *Ann. de Phys. et Ch.*, LIV, p. 66.
2. *C. R. Acad. des Sc.*, juin 1878.
3. *Recherches nouvelle sur les vins*, thèse, Lyon, 1891.
4. WURTZ, *Dict. de Chimie; Fascicule :* Article Phénols.

Quand on met en présence une aldéhyde énergique, comme l'aldéhyde formique que je vais prendre comme exemple, avec un phénol ou un polyphénol, il y a soudure du résidu méthylénique par les noyaux aromatiques avec élimination d'eau, on obtient des corps cristallisés et bien définis possédant, la constitution suivante (R étant un noyau aromatique) fig. 1 :

OH
R—OH
OH
(1) CH^2
OH
R—OH
OH

Mais l'aldéhyde peut encore réagir sur les hydroxyles. C'est le cas le plus général pour les polyphénols : on obtient des précipités amorphes *d'autant moins solubles que le nombre d'hydroxyles soudés est plus grand* (fig. 2).

OH
R—OH
O
(2) CH^2 CH^2
O
R—OH
OH

Cette soudure facilite la réunion de plusieurs molécules (fig. 3).

O
CH^2
O
R—OH
O
(3) CH^2 CH^2
O
R—OH
O
CH^2
O

Avec les composés aromatiques amidés ou imidés, le phénomène est le même et je crois en avoir fait la démonstration en

étudiant l'action de l'aldéhyde sur la leukaniline et certaines matières colorantes du triphénylméthane[1].

Une solution de rosaniline se comporte exactement comme la matière colorante du vin rouge. Il y a décoloration, virage de la couleur et précipitation sous forme de dépôt amorphe granulé plus ou moins soluble, selon que l'action de l'aldéhyde est plus prolongée, c'est-à-dire selon que le nombre de résidus aldéhydiques soudés est plus grand.

Les analyses suivantes que j'ai faites antérieurement d'une leukaniline aldéhydifiée ne laissent en effet aucun doute sur la fixation de résidus méthyléniques, démontrée par l'augmentation de poids du carbone et de l'hydrogène.

	Leukaniline C^{19} H^{19} Az^{3}	Leukaniline transformée.
Carbone	78,89	79,89
Hydrogène	6,57	6,72
Azote	14,53	13,45

D'après l'analogie et d'après ce que nous savons sur la question, l'aldéhyde acétique doit se comporter de la même façon que l'aldéhyde formique. Les essais suivants viennent encore à l'appui de cette hypothèse.

La combinaison entre l'aldéhyde acétique et la matière colorante du vin rouge n'exige qu'une très petite quantité d'aldéhyde, étant donnée la différence de leurs poids moléculaires. Mais cette différence, d'après le mécanisme que je viens d'expliquer, doit se manifester par une augmentation légère mais constatable du poids de la matière colorante précipitée. C'est ce que j'ai vérifié en comparant l'extrait d'un vin rouge aldéhydifié en excès. (J'indique plus loin les précautions à prendre pour la réussite de ces essais.)

1. *C. R.* 1893, I, p. 1382; *Bull. de la Soc. chim.*, 1893, p. 565 et 610.

TABLEAU VI

POIDS DES EXTRAITS TÉMOINS pour un même vin.		POIDS DES EXTRAITS après aldéhydification.
1	25,154	25,200
2	25,160	25,210
3	25,160	25,212
4	25,155	25,205

Les différences, quoique dans le même sens, sont faibles.

J'ai répété le même essai sur du vin rouge concentré au 1/3. Les différences ont été plus nettes.

TABLEAU VII

POIDS DES EXTRAITS TÉMOINS	POIDS DES EXTRAITS après aldéhydification.
74,622	75,630
74,624	75,630
74,624	75,628
74,625	75,632

L'hypothèse que je viens d'émettre au sujet de la fixation du résidu aldéhydique à la matière colorante du vin n'est donc pas purement d'ordre théorique : elle s'appuie sur des expériences et des analogies et cadre bien d'ailleurs avec toutes nos connaissances sur les propriétés des aldéhydes et des polyphénols. Elle explique notamment l'insolubilité variable et plus ou moins grande des dépôts d'origine aldéhydique.

EXPLICATION DES PLANCHES VIII ET IX

Pl. VIII. — Fig. 1, 2, 3. Dépôts normaux d'après Pasteur. — Fig. 4, 5, 6. Dépôts provoqués par aldéhydification.

Pl. IX. — Fig. 1. Coloration des granulations des dépôts d'un vin rouge aldéhydifié. — Fig. 2. Coloration des granulations des dépôts normaux, d'après Pasteur.

LE ZINC CHEZ LES PLANTES

Recherches sur sa présence et son rôle

Par Maurice JAVILLIER

(Travail du laboratoire de M. G. BERTRAND)

L'analyse élémentaire des plantes montre que treize éléments chimiques interviennent de façon constante dans leur composition. Ces éléments C, H, O, N, P, S, Cl, Si, K, Na, Ca, Mg, Fl, ont dans la vie végétale une importance que leur abondance même permettait de prévoir. Les recherches physiologiques, poursuivies depuis un demi-siècle, ont précisé le rôle de ces éléments ; elles ont eu pour conséquence pratique l'utilisation raisonnée, en agriculture, des engrais minéraux.

Mais, en appliquant des techniques analytiques très sensibles, les chimistes ont trouvé chez les plantes d'autres éléments chimiques : l'iode, le bore, l'arsenic, l'aluminium, le manganèse, le cuivre et beaucoup d'autres, si bien qu'aujourd'hui le nombre des éléments signalés chez les végétaux dépasse trente. La liste de ces éléments est d'ailleurs loin d'être close ; de nouveaux perfectionnements apportés aux méthodes d'analyse l'étendront sans nul doute.

On se trouve dès lors conduit à se demander quel intérêt physiologique présentent des corps que l'on rencontre seulement à l'état de traces. Si l'on devait mesurer l'importance biologique d'un élément à sa masse dans l'être vivant, celle des éléments en question serait assurément bien petite ou nulle. Mais tel n'est point le cas. Tout un ensemble d'observations a montré que, dans les réactions de la chimie physiologique comme dans celles de la chimie générale, des doses infinitésimales de certains éléments peuvent intervenir à titre d'agents catalytiques, C'est le cas du manganèse dans les phénomènes d'oxydation par la laccase ; c'est celui du calcium dans certains phénomènes de coagulation et de protéolyse, etc. Si la découverte des « infiniment petits organisés » a jeté la lumière sur la nature des fermentations et l'origine des

maladies infectieuses, l'intervention des « infiniment petits chimiques » explique à son tour un grand nombre de phénomènes biologiques. Il reste de ce côté un champ curieux à explorer.

***

Guidé par ces idées générales, j'ai commencé l'étude du zinc dans les plantes. Ce métal avait été caractérisé à l'état de traces dans quelques végétaux [1] et trouvé en proportions souvent élevées dans les plantes dites « calaminaires » [2] que l'on rencontre abondamment sur les sols riches en minerais de zinc (Haute-Silésie, Vieille-Montagne, etc.). Mais il n'existait à ce sujet aucun travail d'ensemble et, dans plusieurs cas, l'absence de détails sur la technique expérimentale jetait quelque incertitude sur la valeur des résultats publiés.

J'ai pu aborder la question grâce à la technique nouvelle de précipitation et de dosage du zinc que nous avions étudiée, M. G. Bertrand et moi [3]. Je me borne à rappeler ici que la méthode repose, en principe, sur ce fait que le zinc donne avec la chaux une combinaison (zincate de calcium) extrêmement insoluble, se précipitant à l'état microcristallin lorsqu'on élimine par ébullition l'ammoniaque de ses solutions ammoniacales. Pour l'application de cette méthode à la recherche biologique du zinc, je renvoie au mémoire plus étendu que j'ai publié sur cette question [4]. On y trouvera exposé le détail des manipulations avec l'ensemble de précautions qui mettent l'opérateur à l'abri de toute cause d'erreur, et donnent à la méthode toute son exactitude.

J'ai recherché et dosé le zinc dans des plantes provenant de terrains différents par leur origine géologique et leur composition chimique. La majorité d'entre elles provenait pourtant de terrain primitif à roches granitoïde ou trachitique.

Voici, résumés en un tableau, quelques résultats expérimentaux.

1. Notamment dans *Fucus vesiculosus* et *Zostera maritima*, par Forstammer, dans le blé, le maïs, l'orge... par Lechartier et Bellamy dans les bois de pin, d'epicea, de vigne, de chêne... par Demarçay.

2. On réserve généralement ce nom aux espèces suivantes : *Viola lutea* Sm. var. *calaminaria*, *Thlaspi alpestre*, var. *calaminare* Lej., *Armeria maritima* Willd., var. *elongata*, *Alsine verna* Bartl. Pour toutes les indications bibliographiques et les détails techniques, consulter Javillier : « Recherches sur la présence et le rôle du zinc chez les plantes. » *Thèse Doct. Sc. nat.* Paris, 1908.

3. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXLIII, p. 900 (1906), *Ibid.*, t. CXLV, p. 924 (1907).

4. *Thèse citée.*

FAMILLES	ESPÈCES végétales.	PARTIES employées.	ORIGINE géographique.	ZINC 0/0 de cendres.	ZINC 0/0 de mat. sèche.
				gr.	gr.
Conifères.	*Abies pectinata D. C.*	Tige jeune.	Lormes (Morvan).	0,150	0,0023
—	—	Feuilles.	—	0,070	0,0033
—	*Pinus strobus L.*	—	—	0,103	0,0030
—	*Larix europœa D. C.*	Rameaux av. feuilles.	—	0,040	0,0047
—	*Juniperus communis L.*	—	—	0,048	0,0029
Graminées.	*Agropyrum repens P. B.*	Rhizôme.		non caract.	
—	*Triticum sativum L.*	Fruits.		caractérisé.	
—	*Avena sativa L.*	—		caractérisé.	
Bétulacées.	*Betula alba L.*	Ecorce.	ormes.	0 120	0,0135
—	*Alnus glutinosa Gœnt.*	ameaux.	—	0,006	0,0002
Corylacées.	*Carpinus betulus L.*	Feuilles.		0,034	0,0035
Cupulifères	*Quercus robur L.*	—		0,026	0,0017
Urticacées.	*Ficus carica L.*	Feuilles.	Corse.	0,008	0.0014
—	*Cannabis sativa L.*	Graines.	?	0,034	0,0043
Polygonacées.	*Polygonum fagopyrum L.*	Fruits.	?	0,056	0,0002
Crucifères.	*Sinapis alba L.*	Graines.	?	0,022	0,0022
—	*Thlaspi calaminare Lej.*	Racines.	Gîte calamin.	7,6	0,7448
—	—	Parties aériennes	de Moresnet.	3,05	0,4971
Violacées.	*Viola calaminaria Sm.*	Racines.	—	1,14	0,1345
—	—	Parties aériennes.	—	0,775	0,0835
—	*Viola tricolor L.*	Plante entière.	—	1,180	0,132
Caryophyllacées.	*Alsine verna Berth.*	—	—	2,419	0,265
Sapindacées.	*Æsculus hippocastanumL*	Tige.	Paris.	0,006	—
Ampélidacées.	*Vitis vinifera L.*	—	Nuits (C.-d'Or).	0,030	0,0037
Légumineuses.	*Leus esculenta Niœuch.*	Graines.	Auvergne.	0,116	0,0095
—	*Medicago sativa L.*	—	?	0,033	—
—	*Robinia pseudo-acacia L.*	Feuilles.	Lormes.	0,011	0,0011
Rosacées.	*Primus spinosa Tourn.*	Rameaux.	Nuits.	0,006	0,0005
Plombaginacées.	*Armeria elongata Hoppn.*	Racines.	Moresnet.	1,791	0,1175
—	—	Org. aériens	—	0,420	0,0459
Oléacées.	*Olea europœa L.*	Feuilles.	Corse.	0,017	0,0012
—	*Fraxinus excelsior L.*	—	Lormes.	0,004	0,0004
Gentianacées.	*Gentiana lutea L.*	Racine.	Auvergne.	0,074	0,0037
Solanacées.	*Solamnum dulcamara L*	Tige.	?	non caract.	
Loganiacées.	*Strychnos nux vomica L.*	Graines.	?	0,006	0,0004
Scrofulariacées.	*Digitalis purpurea L.*	Feuilles.	Lormes.	0,037	0,0032
—	—	Graines.	Auvergne.	0,155	0,0053
Plantaginacées.	*Plantago lanceolata L.*	Racines.	Moresnet.	3,66	—
—	—	Tiges et feuilles	—	0,912	0,0875
Cucurbitacées.	*Bryonia dioïca Jacq.*	Rhizôme.	Auvergne.	0,018	0,0010
Caprifoliacées.	*Sambucus nigra L.*	Rameaux av. feuilles.	Lormes.	0,014	0,0015
Composées.	*Arnica montana L.*	Inflorescences.	Auvergne.	0,020	0,0018
—	*Tussilago farfara L.*	Feuilles	?	0,014	0,0037
Champignons.	*Psalliota campestris L.*	Pied et chapeau.	?	0,056	0,0102
—	*Polyporus officinalis Fr.*	Chapeau.	?	0,134	0,0021
Algues.	*Laminaria sacch. Larux*	Thalle.	Manche.	0,007	0,0010
—	*Fucus vesiculosus L.*	—	—	0,008	0,0019
Crypt. vasc.	*Equisetum limosum L.*	Plante entière.	Tours.	non caract.	
—	*Pteris aquilina L.*	Frondes.	Essen,	0,160	0,0239
—	*Polystichum filix-mas R.*	Rhizômes.	?	0,129	0,0060

Quelques faits d'ordre général peuvent se dégager de ces analyses. C'est d'abord la présence constante, ou presque, du zinc chez les plantes. Si nous faisons abstraction des plantes dites calaminaires et des plantes recueillies sur des sols très zincifères, tels le *Plantago*, recueilli à Moresnet et le *Pteris* d'Essen, on voit que presque toutes les autres renferment des quantités non négligeables de zinc. Il ne me paraît donc plus possible d'écrire, comme avait cru pouvoir le faire Dehérain dans son excellent traité de chimie agricole : « l'oxyde de zinc se rencontre dans les cendres des plantes qui se développent sur les sols voisins des mines de zinc. » En fait, il faut dire qu'il est très commun dans les cendres des végétaux, au même titre que l'oxyde de fer ou l'oxyde de manganèse.

Ce métal est présent dans tous les organes des plantes, racines, tiges, feuilles, fleurs, graines des phanérogames, chapeau des champignons ou thalle des algues. Je ne puis d'ailleurs pas dire s'il se localise de préférence dans tel membre du végétal.

Il faut noter son abondance particulière dans les plantes de la famille des conifères. Il y a là, à mon sens, une véritable caractéristique, au point de vue chimique, des conifères, aussi curieux que la richesse de leurs cendres en manganèse et la présence de manno-cellulose dans leur bois.

Quant aux plantes dites calaminaires, on voit que le taux du zinc peut atteindre chez elles des chiffres extrêmement élevés [1] ; elles jouissent vis-à-vis de ce métal d'une capacité d'accommodation tout à fait remarquable.

***

La présence du zinc chez les plantes possède-t-elle un intérêt physiologique? Evidemment ce peut être un fait tout à fait banal. Il y a longtemps que des expériences de Trinchinetti, reprises par Dehérain, ont montré que les racines des plantes absorbent tous les éléments, même inutiles ou dangereux, des milieux dans lesquels on les fait vivre. Pourtant il y avait dans la littérature scientifique un exemple tout à fait classique, où l'intervention du zinc apparaissait comme indispensable à la

1. On a publié déjà de nombreuses observations sur la teneur en zinc des plantes croissant sur des sols calaminaires (Braun, Risse, Jeusch, etc.). On en trouvera le détail avec les indications bibliographiques dans la thèse précédemment signalée.

végétation d'une moisissure, l'*Aspergillus niger* V.Tgh. Je fais allusion ici au travail bien connu de Raulin. On sait comment les faits mis en évidence par ce savant ont été contredits, et comment j'ai pu, par l'application d'une technique rigoureuse, non seulement les rétablir, mais encore en accroître la signification et l'intérêt [1]. J'ai montré, en effet, qu'une dose extraordinairement petite de zinc — 1/50,000,000 du milieu de culture par exemple — est utilisée par la moisissure qui fixe le métal et, grâce à lui, accroît singulièrement de poids; j'ai montré que 1/10,000,000 de zinc dans le milieu suffit pour faire atteindre à la mucédinée son poids maximum. L'Aspergillus constitue un véritable réactif biologique du zinc, réactif merveilleusement sensible, puisqu'il en décèle le cinquante millionnième et permet, dans des conditions déterminées, de faire de véritables dosages au demi-centième de milligramme.

Cette action du zinc était-elle spécifique? Il y avait lieu de penser qu'elle ne l'était pas. Aussi ai-je tout de suite cherché à retrouver des faits du même ordre avec d'autres végétaux : j'ai choisi dans ce but des levures et diverses plantes phanérogames.

J'ai étudié à ce point de vue deux levures : l'une, une levure du Bordelais, qui vit très facilement en voile à la surface de ses milieux de culture, en large aérobiose par conséquent, et en cela très comparable à l'*Aspergillus;* l'autre, une levure du Gard, se comportant au contraire en ferment alcoolique. Ces deux levures ont fourni des résultats dont le rapprochement est très instructif.

En faisant vivre la première, la levure-végétal, sur un milieu approprié renfermant des sels minéraux, et, comme aliments organiques, de l'acide tartrique et du saccharose, j'ai vu que l'addition de très petites quantités de zinc permet de multiplier les récoltes par 2, 3 et même par 4. Voici, par exemple, le chiffre d'une expérience :

1. *C. R.*, t. CXLV., p. 1212 (1907), et t. CXLVI, t. p. 365 (1908).

Dilution du zinc.	Levure obtenue.	Sucre consommé.
Pas de zinc.........................	0gr.322........	5gr,2
1/10,000,000.....................	0gr,350	3gr,8
1/1.000.000.........................	0gr,968.........	12gr,25
1/100,000..........................	1gr,087........	18gr,50
1/10,000...........................	1gr.483........	19gr,

Les faits, dont je ne puis ici reproduire le détail, montrent que l'action du zinc sur la levure expérimentée est de même sens que pour l'*Aspergillus*. Mais la levure « réagit au zinc », si je puis m'exprimer ainsi, moins vivement que la moisissure. Avec des doses inférieures au dix-millionnième, on n'observe pas d'action très manifeste, on reste dans la zone d'accroissement des récoltes depuis 1/10,000,000 jusqu'à 1/10,000, mais l'on peut obtenir des cultures encore très prospères en présence de 1/1000 de zinc. Moindre sensibilité aux très petites doses, résistance plus grande aux doses élevées, tels sont les caractères qui, dans ses relations avec le zinc, différencient notre levure de l'*Aspergillus*, mais les faits restent de même sens.

Il n'en est pas de même quand on étudie la levure-ferment. Celle-ci fonctionne surtout comme organisme sécréteur de zymase, et c'est l'action du zinc sur cette zymase qui donnera au phénomène son orientation. Or, l'expérience montre qu'à des doses où le zinc agit énergiquement sur la multiplication de la levure-végétal, il n'exerce aucune action appréciable sur la fermentation. Il y a là une opposition qui n'est pas sans intérêt. On la retrouvera quand on étudiera le mécanisme d'action du zinc.

L'étude de l'action que de petites quantités de zinc exercent sur les plantes vertes pouvait présenter un intérêt considérable. On sait à quels surprenants résultats on est arrivé en France, au Japon, aux États-Unis, par l'emploi du manganèse comme « engrais complémentaire ». Des quantités relativement très petites de cet élément ont suffi pour élever les récoltes de certaines graminées, riz, avoine, de 25, 40 et même 50 0/0 [1]. Il

1. Cf. G. Bertrand. Sur l'emploi favorable du manganèse comme engrais. *C. R.*, CXLI, p. 1255 (1905).

n'était pas illégitime d'espérer des améliorations du même ordre avec des quantités de zinc bien plus petites encore, de telle sorte que la question théorique que j'essayais de trancher se doublait d'un problème pratique d'un très grand intérêt économique. J'ai, pendant deux années, fait les études de laboratoire qui doivent naturellement précéder les expériences de plus grande envergure.

Pour résoudre la question théorique, j'ai appliqué la méthode classique des cultures en solution nutritives, m'efforçant de la perfectionner afin de mieux assurer l'exactitude des résultats. Il faut d'ailleurs dire que cette étude expérimentale ne se présente pas avec la relative simplicité des expériences faites sur des levures ou des moisissures. Il n'est pas aisé d'assurer l'asepsie de la semence, de conserver stériles les milieux de culture, de comparer des plants ne différant rigoureusement entre eux que par le facteur de variation volontairement introduit. Il est surtout tout à fait impossible de réaliser une expérience-témoin dans laquelle n'interviendrait pas trace de zinc ; la graine elle-même en apporte une petite réserve, et il y a là, à l'origine, une inévitable cause d'erreur. Quoi qu'il en soit, j'ai pu établir, en me servant de blé comme sujet d'expérience, que l'introduction de doses faibles de zinc (de 1/5,000,000 à 1/250,000 par exemple, dans les conditions expérimentales où je me plaçais) augmente les rendements en poids sec de cette graminée ; cette augmentation de poids porte surtout sur la tige et les feuilles; les racines sont très sensibles au zinc, au moins lorsqu'on leur offre ce métal sous une forme soluble, celle de sulfate par exemple; pour des doses qui augmentent encore notablement le poids des organes verts, les racines, directement en contact avec la solution nutritive, diminuent déjà de diamètre et réduisent leur appareil vasculaire. J'ai dosé le zinc fixé par les organes aériens et les racines des blés expérimentés et j'ai montré que le blé, en cela beaucoup plus sensible à l'action toxique du zinc que l'*Aspergillus* ou la levure, n'en peut fixer, sans dommage, plus de 7/10000 de son poids sec.

Ces expériences de laboratoire, en montrant que les plantes vertes peuvent, dans certaines conditions, bénéficier comme les plantes sans chlorophylle, de la présence du zinc dans leur

sol, incitent aussi à quelque prudence lorsqu'il s'agit de les étendre à la pratique agricole. Nous avons, M. Bertrand et moi, commencé des essais dans cet ordre d'idées. Nous avons obtenu des résultats encourageants en associant, comme agents catalytiques, le manganèse et le zinc dans des engrais complexes. Nous ne nous croyons d'ailleurs pas en droit d'insister sur des résultats qui n'ontpas encore reçu la sanction d'une expérience assez prolongée.

***

Caractériser dans la plante un élément, reconnaître qu'il est indispensable, ou au moins utile à son développement, c'est ne remplir qu'une partie du programme que comporte une pareille étude. Pour beaucoup des éléments caractérisés à l'état de traces chez les êtres vivants, tels que l'arsenic ou le bore, nous ne sommes pas beaucoup plus avancés.

Pour quelques-uns, tels que l'iode ou le manganèse, nous le sommes davantage : nous les voyons entrer dans des combinaisons organiques comme l'iodothyrine, ou des complexes diastasiques comme la laccase, et ainsi s'éclaire une partie au moins de leur rôle physiologique. Il y a, dans cet ordre d'idées, des essais à tenter pour tous les autres éléments catalytiques. Il ne me paraît pas douteux que pour le zinc, dont j'ai établi la diffusion chez les plantes, et mis en lumière l'action biologique, la voie ne soit ouverte à de curieuses observations.

Sur le mécanisme de la réaction Bordet-Gengou

PREMIER MÉMOIRE

Par le Dr Milton CRENDIROPOULO,

Directeur du laboratoire bactériologique du Conseil quarantenaire à Alexandrie (Égypte).

Depuis que Wassermann a eu l'idée d'appliquer la réaction de Bordet et Gengou au diagnostic de la syphilis, ce procédé a attiré l'attention d'un grand nombre de bactériologues. Son étude a provoqué une foule de travaux qui, malgré leur valeur différente mais réelle, n'ont pu donner encore une explication satisfaisante du phénomène.

Il y a déjà longtemps que Neisser et Weschberg [1] ont remarqué que, quand on mettait en présence de globules rouges ou de microbes, un excès de leur sérum spécifique et une quantité relativement faible d'alexine, la réaction que ce mélange devait donner n'avait plus lieu. Ils expliquaient le phénomène par la déviation du complément. Ils croyaient que les ambocepteurs libres, contenus dans le liquide, absorbaient une partie du complément, qui n'était plus alors en quantité suffisante pour compléter les ambocepteurs fixés sur les cellules. Mais Morgenroth [2], étudiant le phénomène sur le sérum hémolytique, a établi que les ambocepteurs en excès n'auraient pu fixer le complément que s'ils possédaient pour lui une affinité supérieure (ou au moins égale) à celle des ambocepteurs fixés. Or, les travaux d'Ehrlich et de son école, ainsi que ceux de Bordet, ont mis en évidence que les ambocepteurs hémolytiques, fixés sur les hématies, manifestaient une affinité considérable pour le complément. Le dernier des auteurs cités soutenait même que ceux-ci seuls sont capables de fixer le complément. C'est pour prouver cette avidité qu'il a imaginé l'expérience connue sous le nom de la réaction de fixation et qui fait l'objet du présent travail.

Son principe est le suivant. Le complément ne se fixe sur l'ambocepteur que si celui-ci est déjà fixé sur l'antigène. Il en résulte que si, par un moyen quelconque, on réussit à faire

1. *Münch. m. Woch.*, n° 18, 1901.
2. *Cenr. für Bact.*, Bd. 35, n° 4.

absorber le complément, on le met hors d'action et, par conséquent, dans l'impossibilité de s'unir à un second ambocepteur qu'on ajoute consécutivement.

Cette théorie présuppose l'unité du complément, unité qui est contestée par Ehrlich et son école. Elle a donc été fortement attaquée. Nous ne suivrons pas cette longue polémique qui n'entre point dans le cadre de notre travail. Nous nous bornerons à citer le travail de Moreschi [1]. En traitant des lapins avec de l'alexine de chèvre, cet auteur a trouvé que le sérum spécifique qu'il obtenait neutralisait bien le complément de la chèvre, mais était sans action sur celui des autres animaux, à moins qu'il n'ajoutât une trace de sérum normal de chèvre chauffé à 55°. Il en concluait qu'il s'agit d'un pouvoir anticomplémentaire du sérum qui, pour entrer en fonction, a besoin de deux substances : l'une, qui se trouve dans le sang des animaux traités et l'autre, qui existe normalement dans l'antigène qui a servi au traitement. Il a pourtant soin d'ajouter, dans la deuxième conclusion de son travail, que « l'action anticomplémentaire est associée avec le phénomène de la précipitation. »

Gay est encore plus affirmatif [2]. Il arrive à ce résultat que le phénomène de Bordet et Gengou ne repose pas sur l'action d'un ambocepteur, mais bien sur celle d'une précipitation. Pour lui c'est le précipité formé, visible ou non, qui fixe l'alexine. Il y a par conséquent fixation et non action anticomplémentaire. Moreschi, en revenant sur la question, en collaboration avec Pfeiffer [3], est d'avis que le vrai facteur dans la réaction est le précipité, qui entraîne ou détruit le complément. Ulhenhuth et Moreschi [4], Browning et Sachs [5], Friedberger et Moreschi [6] arrivent aux mêmes résultats.

Wassermann et Bruck [7], qui ont étudié les deux phénomènes parallèlement, ont fait faire un grand pas à la question, en employant non plus des émulsions bactériennes, comme on le faisait jusqu'alors, mais des extraits des corps bacillaires et des substances bactériennes dissoutes.

1. *Berl. klin. Woch.*, n° 37, 1905.
2. *Cent. f. Bact.*, Bd 35, 1905 et *Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1905.
3. *Berl. klin. Woch.*, n° 2, 1906.
4. *Berl. klin. Woch.*, n° 4, 1906.
5. *Berl. klin. Woch.*, nos 21 et 22, 1906.
6. *Berl. klin. Woch.*, n° 31, 1906.
7. *Berl. klin. Woch.*, n° 55, 1905.

Ils ont remarqué que ces extraits ont la propriété de former, en présence des immunsérums, des précipités volumineux, propriété qu'ils perdent complètement après quelques jours. Profitant de cette propriété, inconnue jusqu'alors, ils ont cherché à voir si les extraits frais des bactéries, c'est-à-dire ceux qui formaient un volumineux précipité, absorbaient le complément en plus grande quantité que les vieux extraits qui ne précipitaient plus. Leur étude comparative les a conduits à ce résultat que les deux phénomènes sont indépendants l'un de l'autre.

Si, en effet, il y a dans quelques cas un parallélisme manifeste, souvent les vieux extraits fixent le complément aussi bien que les neufs. Pour ces auteurs, la réaction est due à ce que les ambocepteurs, après leur union avec l'antigène, absorbent le complément; il y a, par conséquent, fixation dans toute l'acception du mot.

Muir et Martin [1] ont aussi remarqué que la déviation du complément peut prendre place sans qu'il y ait de précipité visible; mais, pratiquement, la substance qui produit la déviation se confond avec celle qui produit la précipitation.

Ulhenhuth [2], de son côté, trouve qu'une grande quantité de substances non spécifiques peuvent fixer l'alexine et empêcher par conséquent l'hémolyse. Tels sont : le carton, la terre, la paille, le pain, l'urine, la tuberculine, plusieurs sérums non dilués et diverses autres substances. Plus tard, Seligmann [3] a obtenu la fixation du complément par des précipités chimiques et même par une réaction colloïdale sans précipitation.

Ayant entrepris, dans un travail antérieur, de différencier les vibrions entre eux au moyen de la réaction Bordet-Gengou, nous avons vu nos conclusions attaquées et la valeur de l'épreuve mise en doute. Avant de discuter, à l'aide de nouvelles expériences, le bien ou le mal fondé des arguments qu'on nous a opposés, nous avons voulu aller plus avant dans la connaissance du mécanisme de la déviation du complément, et établir, si possible, les conditions dans lesquelles ce phénomène s'accomplit. C'est cette partie de notre travail que nous publions aujourd'hui.

Nous examinerons donc successivement les facteurs en jeu

1. *Journ. of. hyg.*, t. VI, 1906.
2. *Deuts. med. Woch.*, nos 31 et 51, 1906.
3. *Berl. klin. Woch.*, no 32, 1907.

dans leurs rapports les plus simples. Nous chercherons à voir quelle est l'action de chaque élément sur un autre, puis sur plusieurs, ou tous à la fois. Enfin, nous étudierons la réciprocité de ces actions.

I

ACTIONS DES VIBRIONS SUR L'ALEXINE

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, plusieurs auteurs ont vu que l'alexine se fixe non seulement sur les microbes, sans l'intermédiaire d'un autre agent, mais aussi sur des substances absolument inertes et nullement spécifiques. Michaeles [1], en expérimentant sur le foie syphilitique, a vu que le foie normal absorbe une quantité d'alexine assez grande, et, dernièrement, Levaditi faisait la même réflexion à la Société de Biologie. Nos expériences nous démontrent que les vibrions peuvent absorber une quantité d'alexine relativement considérable, sans avoir besoin, pour cela, d'un corps intermédiaire.

Exp. 1. — Nous ensemençons, sur agar, sept vibrions différents. Parmi ceux-ci il y en a qui agglutinent sous l'influence du sérum anticholérique, comme les vibrions de Marseille, le Tor 6 et le C K; les autres n'agglutinent point; tels sont les vibrions de Massaoua, de Finkler et Prior, de Metchnikoff et notre 98. Avec chacune de ces cultures, nous faisons une émulsion telle qu'un c.c. d'eau salée à 7 1/000 contienne une anse de platine de microbes et nous chauffons une partie de cette émulsion à 70° pendant une demi-heure. Puis, nous diluons toutes ces émulsions, chauffées ou non, de façon que chaque série de tubes contienne pour 1 c.c. d'eau physiologique 1/10, 1/5, 1/2 et une anse entière de platine. Nous ajoutons dans chaque tube 0,1 c.c. d'alexine de lapin et nous laissons pendant une heure à l'étuve à 36°. Après ce laps de temps, nous versons dans tous les tubes, 1 c. c. d'une émulsion à 5 0/0 de globules de bœuf, cinq fois lavés et sensibilisés avec un sérum de lapin hémolytique pour ces hématies, nous remettons à l'étuve pendant une heure et nous laissons à la température du laboratoire (22°).

1. *Berl. klin. Woch.*, n° 7, 1908.

EXPÉRIENCE I

MICROBES MORTS

Numéros d'ordre.	Quantité de vibrions contenue dans 1 c. c. d'eau salée.	VIBRIONS CK		V. MASSAOUA		V. TOR 6		V. 98		V. FINKLER		V. MARSEILLE		V. METCHNIKOFF	
		3 heures après.	24 heures après.	3 heures après.	24 heures après.	3 heures après.	24 heures après.	3 h. après.	24 h. après.	3 heures après.	24 heures après.	3 heures après.	24 heures après.	3 heures après.	24 heures après.
1	1/10 d'anse.	++++	++++	+++	++++	+++	++++	0	++	+++	++++	+++	++++	+++	++++
2	1/5 »	++	+++	++	+++	++	+++	0	++	++	+++	++	+++	++	+++
3	1/2 »	0	++	0	++	0	++	0	+	0	++	+	++	0	++
4	1 anse.	0	++	0	++	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+

Hémolyse complète = ++++. Hémolyse prononcée = +++.
Hémolyse faible = ++. Hémolyse minime = +.
Hémolyse nulle = 0.

EXPÉRIENCE II

MICROBES VIVANTS

Nos d'ordre	Quantité de vibrions contenue dans 1 c. c. d'eau salée.	Vibrions CK		V. Massaoua.		V. Tor 6.		V. 98.		V. Finkler.		V. Marseille.		V. Metchnikoff.	
		3 h.	24 h.	3 h.	24.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.
1	1/10 d'anse	++	+++	++	+++	++	++	0	+	++	+++	++	+++	++	+++
2	1/5 —	0	++	0	++	0	+	0	0	0	++	0	++	0	++
3	1/2 —	0	++	0	++	0	0	0	0	0	++	0	+	0	+
4	1 anse	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ces expériences nous montrent, d'une façon générale, que les vibrions ont la faculté d'absorber l'alexine d'autant plus énergiquement qu'ils sont plus nombreux. Elles nous enseignent encore que, parmi les différentes espèces de vibrions, il y en a qui la fixent plus avidement que les autres et, enfin, que les vibrions morts l'absorbent bien moins et surtout plus uniformément que les vivants.

Mais pour avoir une idée de la quantité énorme d'alexine qu'il faut pour saturer ces vibrions, on n'a qu'à jeter un coup d'œil sur le tableau suivant.

Nos d'ordre	Quantité de vibrions	Eau physiologique	Alexine de lapin.	Vib. CK.		V. Tor. 6.		V. Marseille.		V. 98.	
				3 h.	24 h.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.	3 h.	24 h.
1	1 anse	0,9 c. c.	0,1 c. c.	o	o	o	o	o	o	o	o
2	»	0,8 c. c.	0.2 c. c.	o	+	o	o	o	o	o	o
3	»	0.7 c. c.	0,3 c. c.	+	++	o	o	+	++	o	o
4	»	0,6 c. c	0,4 c. c.	++	+++	o	+	++	+++	o	o
5	»	0,5 c. c.	0,5 c. c.	++++	++++	+	++	++++	++++	o	+

Le mélange microbe + eau + alexine est resté une heure à l'étuve et, après, on a ajouté l'émulsion des globules sensibilisés. Celle-ci, pour toutes nos expériences, se composait de globules de bœuf cinq fois lavés, étendus au 20e dans l'eau physiologique et sensibilisés avec 0,02 c.c. de sérum hémolytique de lapin pour un c. c. d'émulsion. La quantité du système hémolytique que chaque tube recevait était régulièrement de 1 c. c.

Les quantités d'alexine que chaque espèce de vibrions vivants peut absorber ne sont pas constantes. Nous possédons des expériences dans lesquelles une anse de CK est arrivée à fixer 0,3 c.c. d'alexine et d'autres, dans lesquelles la même quantité de Tor 6 n'a pu absorber 0,2 c. c. Ceci dépend naturellement de la teneur en complément du sérum frais, teneur qu'il est impossible de connaître. On ne voit pas ces grandes quantités absorbées quand on emploie le sérum frais de lapin (en général pauvre en complément), mais aussi, quoique à un taux inférieur, quand on fait usage du sérum de cobaye (ordinairement très riche en alexine).

La quantité de microbes n'est pas seule à influencer la fixa-

tion de l'alexine, le temps pendant lequel les deux éléments se trouvent en contact à une action réelle.

Exp. 4. — Dans l'expérience suivante, le vibrion essayé est notre 98, qui a un grand pouvoir absorbant. Un cinquième d'anse de platine, d'une culture sur agar de 24 h. est émulsionné dans 0,7 c. c. d'eau physiologique. A cette émulsion est ajouté 0,1 c. c. d'alexine de lapin; puis, immédiatement ou à des intervalles de temps marqués sur le tableau, on ajoute 1 c. c. du système hémolytique. Les microbes sont chauffés à 70° pendant une demi-heure.

Numéros d'ordre.	SYSTÈME hémolytique ajouté.	30 minutes.	45 minutes.	1 heure.	2 heures.	3 heures.	24 heures.
1	Immédiatement.	+++	++++				
2	Après 15 minutes.	+	+++	++++			
3	— 30 —	0	0	+	++	++	+++
4	— 1 heure.	0	0	0	0	0	+
5	— 2 heures.	0	0	0	0	0	+

Le complément ne commence à se fixer qu'au bout d'une heure.

Voici une autre expérience faite avec les mêmes vibrions vivants provenant de la même culture.

Nos d'ordre.	SYSTÈME hémolytique ajouté.	30 m.	45 min.	1 h	2 h	3 h.	24 h.
1	Immédiatement.	+++	++++				
2	Après 15 min.	0	+	++	++	+++	++++
3	— 30 min.	0	0	0	0	0	++
4	— 1 h.	0	0	0	0	0	0
5	— 2 h.	0	0	0	0	0	0

Les vibrions ont donc la propriété de fixer l'alexine sans le concours d'aucun adjuvant; et, pour certaines espèces, cette propriété est très développée. Le pouvoir fixateur des vibrions ne varie pas seulement d'une espèce à l'autre, mais aussi pour les diverses cultures d'une seule et même race.

II

ACTION DES VIBRIONS SUR LE SÉRUM SPÉCIFIQUE

Si nous laissons les microbes en contact avec le sérum spécifique, quels sont les phénomènes qui vont se produire?

Examinons d'abord ce que devient l'immunsérum après son contact avec les microbes.

Une épaisse émulsion du vibrion CK est mélangée avec du sérum anticholérique, de façon que celui-ci soit dans la proportion de 20 0/0. Le mélange est resté à l'étuve à 36° pendant une heure, puis longuement centrifugé. Le liquide surnageant est décanté et mis en proportions diverses dans des tubes dans les quels onverse 0,1 c. c. d'alexine de lapin. On remet le nouveau mélange à l'étuve pendant une heure, puis, on ajoute le système hémolytique. Les tubes témoins contiennent les mêmes quantités de l'immunsérum, qui n'a pas subi le contact des microbes. Les quantités réelles de sérum que chaque tube contient sont notées, dans une colonne à part, dans le tableau suivant :

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	Quantités réelles des sérums.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 heure.	2 heures.	24 heures.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c.	—	1 c. c.	0,18 c. c.	0	0	0	0
2	0,5 —	—	0,1 —	0,4 c. c.	—	0,1 —	0	0	0	+
3	0,3 —	—	0,1 —	0,6 —	—	0,06 —	0	0	+	+++
4	0,1 —	—	0,1 —	0,8 —	—	0,02 —	0	++	+++	++++
5	—	0,9 c. c.	0,1 —	—	—	0,18 —	++	+++	++++	
6	—	0,3 —	0,1 —	0,6 —	—	0,06 —	++	+++	++++	

Voici une autre expérience faite avec le même vibrion et le même sérum, dont les résultats sont moins précis.

Exp. 7. — Une culture sur agar, du vibrion CK, est émulsionnée dans 1 c. c. 2 d'eau physiologique et versée dans un tube à centrifuger contenant 0,8 c. c. de sérum anticholérique. Une heure de contact à l'étuve, centrifugation, décantation et répartition du liquide surnageant dans des tubes (en proportions diverses). On verse, dans chacun de ces tubes, 0,1 c. c. d'alexine de lapin; on laisse une heure à l'étuve, puis on ajoute le système hémolytique.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	Quantités réelles des sérums.	RÉSULTATS APRÈS			
							30 m.	1 heure	2 h.	24 heures.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c.	—	1 c. c.	0,36 c. c.	0	0	+	++
2	0,5 —	—	—	0,4 c. c.	—	0,2 —	0	0	++	+++
3	0,3 —	—	—	0,6 —	—	0,09 —	0	+	+++	+++
4	—	0,9 c. c.	—	—	—	0,36 —	++	+++	+++	++++
5	—	0,3 —	—	0,6 —	—	0,09 —	++	+++	+++	++++

Une troisième expérience va nous donner des résu ltats meilleurs.

Exp. 8. — Dans un tube à centrifuger, contenant 1 c.c. 8 d'eau physiologique et 0,2 c.c. de sérum spécifique, on délaie 8 anses de platine d'une culture sur agar du vibrion CK. On laisse une heure à l'étuve, puis on centrifuge et l'on décante. On répartit le liquide dans trois tubes, en proportions diverses, on ajoute à chacun 0,1 c.c. d'alexine de lapin, on laisse une heure à l'étuve et on ajoute le système hémolytique.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytoque.	Quantités réelles des sérums.	RÉSULTAT APRÈS			
							30 m.	1 heure.	2 heures.	4 heures.
1	0,9 c.c.	—	0,1 c.c.	—	1 c.c.	0,09 c.c.	0	0	0	0
2	0,5 —	—	—	0,4 c. c	—	0,045 —	0	+	++	+++
3	0,3 —	—	—	0,6 —	—	0,027 —	+	++	+++	++++
4	—	0,9 c.c.	—	—	—	0,09 —	++	+++	+++	++++
5	—	0,3 —	—	0,6 —	—	0,027 —	++	+++	+++	++++

Nous ne citons que trois des nombreuses expériences que nous avons exécutées, parce qu'elles sont suffisantes pour montrer que le sérum spécifique, après contact avec les microbes, acquiert une propriété nouvelle. Mais ce fait n'est pas constant. Quelquefois, malgré un conctact prolongé, le sérum reste incapable de neutraliser la moindre trace d'alexine; il se comporte comme un immunsérum qui n'a subi aucun traitement. Tous les expérimentateurs qui ont essayé le procédé de Wassermann comme méthode de diagnostic sont d'accord sur ce point.

Wassermann lui-même et ses collaborateurs, sur 163 cas de syphilis floride, trouvent la réaction positive dans 75 0/0 et dans 58 0/0 seulement lors de syphilis latente. Le sérum des singes syphilisés ne présente la déviation du complément que dans la proportion de 58 0/0. Les recherches de Citron, de Mayer, de Marie et Levaditi, de Ficher et tant d'autres arrivent à la même conclusion. L'inconstance du phénomène est donc la règle générale, même quand on ne regarde pas le résultat final (mais que l'on tient uniquement compte du retard que l'hémolyse met à se produire) : on voit que la réaction peut varier dans des limites très larges, ce que démontrent les expériences suivantes.

Exp. 9. — Dans 3 tubes à centrifuger, contenant 0,6 c. c. d'eau physiologique et 0,4 c. c. de sérum anticholérique, on délaie 4 anses de platine d'une culture sur agar de CK. On met une heure à l'étuve, puis on centrifuge, on décante et l'on verse le liquide décanté dans 3 différents tubes ; on ajoute des quantités variées d'alexine de lapin et la quantité nécessaire d'eau physiologique pour compléter 1 c. c. On remet à l'étuve pendant une heure, puis on ajoute le système hémolytique. La quantité réelle d'immunsérum que contient chaque tube est de 0,36 c. c.

Nos d'ordre	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS			
						30 m.	1 h.	2 h.	24 h.
1	0,9 c. c.	—	0,08 c. c.	0,02 c. c.	1 c. c.	0	0	0	++
2	0,9 c. c.	—	0,05 c. c.	0,05 c. c.		0	0	0	+
3	0,9 c. c.	—	0,02 c. c.	0,08 c. c.		0	0	0	0
4	—	0,9 c. c.	0,05 c. c.	0,05 c. c.		+	++	++	+++
5	—	0,9 c. c.	0,02 c. c.	0,02 c. c.		0	+	++	++

Dans l'expérience suivante, les matériaux et les quantités sont les mêmes.

EXPÉRIENCE 10.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 h.	2 h.	24 h.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c.	—	1 c. c.	0	0	+	++
2	0,9 c. c.	—	0,08 c. c.	0,02 c. c.		0	0	0	0
3	0,9 c. c.	—	0,05 c. c.	0,05 c. c.		0	0	0	0
4	0,9 c. c.	—	0,02 c. c.	0,08 c. c.		0	0	0	0
5	—	0,9 c. c.	0,05 c. c.	0,05 c. c.		++	++	+++	+++
6	—	0,9 c. c.	0,02 c. c.	0,08 c. c.		+	+	++	+++

Dans l'expérience qui suit, le retard est presque nul. Le sérum n'a acquis aucun pouvoir d'empêcher l'hémolyse.

EXPÉRIENCE 11

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 heure.	2 heures.	24 h
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c.	—	1 c. c.	++	+++	++++	—
2	0,9 —	—	0,08 c. c.	0,02 c. c.	—	++	+++	+++	+++
3	0,9 —	—	0,05 —	0,05 —	—	+	+	+	++
4	0,9 —	—	0,02 —	0,08 —	—	0	+	++	++
5	—	0,9 c. c.	0,05 —	0,05 —	—	++	+++	+++	+++
6	—	0,9 —	0,02 —	0,08 —	—	0	+	++	++

Peut-être les variations du pouvoir antihémolytique de l'immunsérum tiennent-elles aux conditions de nos expériences. Examinons donc, séparément, l'influence que peuvent avoir, sur le phénomène, la quantité des microbes, le temps de contact avec le sérum et la quantité de ce dernier.

Commençons par la quantité des vibrions.

Exp. 12. — Dans chacun des 3 tubes à centrifuger contenant chacun 0,6 c. c. d'eau physiologique et 0,4 c. c, de sérum anticholérique, on délaie une anse de platine du vibrion CK. Les mélanges restent une heure à l'étuve

et sont centrifugés. Les liquides surnageants sont décantés et versés chacun dans un tube auquel on ajoute de l'alexine de lapin. Après une heure d'étuve, on ajoute le système hémolytique.

Nos d'ordre	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 heure.	2 heures.	24 h.
1	0,9 c. c.	—	0,08 c. c.	0,02 c. c.	1 c. c.	0	0	0	+
2	0,9 —	—	0,05 —	0,05 —	—	0	0	0	0
3	0,9 —	—	0,02 —	0,08 —	—	0	0	0	0
4	—	0,9 c. c.	0,05 —	0,05 —	—	+	++	++	+++
5	—	0,9 —	0,02 —	0,08 —	—	0	+	++	++

Exp. 13. — Dans l'expérience qui suit, la même quantité de sérum est mise, dans chaque tube, en contact avec deux anses de platine du même vibrion.

No d'ordre.	Sérum traité.	Sérum non traité.	Alexine de lapin	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 h.	2 h.	24 h.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c.c.	—	0,1 c. c.	++++	—	—	—
2	0,9 c. c.	—	0,08 c.c.	0,02 c.c.	0,1 c. c.	+	++	++	+++
3	0,9 c. c.	—	0,05 c.c.	0,05 c.c.	0,1 c. c.	0	+	++	++
4	—	0,9 c. c.	0,08 c.c.	0,02 c.c.	0,1 c. c.	++++	—	—	—
5	—	0,9 c. c.	0,05 c.c.	0,05 c.c.	0,1 c. c.	++++	—	—	—

Exp. — Dans le tableau 14 nous présentons, côte à côte, le résultat de 2 expériences qui ne diffèrent des précédentes que par la quantité de microbes avec une égale quantité de sérum.

Nos d'ordre.	Quantité de culture mise en contact.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum nontraité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 h.	2 h.	24 h.
1	1 culture	0,9 c.c.	—	0,1 c.c.	—	1 c.c.	0	0	+	++
2	»	0,9 c.c.	—	0,05 c.c.	0,05 c.c.	»	0	0	0	0
3	2 cultures	0,9 c.c.	—	0,01 c.c.	—	»	0	0	0	0
4	»	0,9 c.c.	—	0,05 c.c.	0,05 c.c.	»	0	0	0	0
5	—	—	0,9 c.c.	0,05 c.c.	0,05 c.c.	»	+	++	++	+++

Les expériences suivantes ont trait à l'influence que le temps de contact exerce sur le sérum.

Exp. 15. — 3 cultures sur agar du vibrion CK sont délayées, chacune, dans 0,6 c. c. d'eau physiologique et placées dans 3 tubes à centrifuger dont chacun contient 0,4 c. c. de sérum anticholérique. Les mélanges restent à l'étuve pendant un laps de temps variable, au bout duquel ils sont centrifugés et les liquides surnageants décantés et transvasés dans 3 tubes ordinaires contenant chacun 0,05 d'alexine de lapin. Après une heure d'étuve, le système hémolytique est ajouté.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	Temps de contact.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 h.	2 h.	24 h.
1	0,9 c c.	—	0,05 c.c.	0,05 c.c.	1 c. c.	1 h.	0	0	0	++
2	0,9 c.c.	—	—	—	—	2 h.	0	0	0	0
3	0,9 c.c.	—	—	—	—	4 h.	0	0	0	0
4	—	0,9 c.c.	—	—	—	—	+	++	++	+++

Exp. 16. — Le tableau suivant indique les résultats d'une expérience exécutée dans le même but, mais dans laquelle la quantité de microbes mise dans chaque tube est de 4 anses de platine.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	Temps de contact.	RÉSULTAT APRÈS 30 m	1 h.	2 h.	24 h.
1	0,9 c.c.	—	0,05 c.c.	0,05 c.c.	1 c. c.	30 m.	0	+	++	+++
2	0,9 c.c.	—	—	—	—	1 h.	0	0	+	+++
3	0,9 c.c.	—	—	—	—	3 h.	0	0	0	+
4	—	0,9 c,c.	—	—	—	—	+	++	++	+++

Ainsi, la quantité des vibrions et le temps pendant lequel ceux-ci restent en contact avec le sérum, ont une action manifeste sur l'apparition de la nouvelle fonction que l'immunsérum acquiert. Toutefois, cette influence est loin d'être absolue. Dans l'expérience 12, où le sérum a été en contact avec une seule anse de platine de vibrions, celui-ci montre un pouvoir antihémolytique plus grand que dans l'expérience 13, où il a été mélangé avec 4 anses du même microbe. En comparant les

résultats que donne le tube n° 2 de l'expérience 16 avec ceux que présente le tube n° 2 de l'expérience 9 (tubes absolument comparables), nous rencontrons des différences très sensibles en ce qui concerne le moment de l'apparition de l'hémolyse.

Il en est de même quand nous envisageons la quantité nécessaire de sérum spécifique. Si nous jetons un coup d'œil sur les expériences précitées, nous voyons, d'un côté, qu'une même quantité de sérum mis en contact avec une quantité déterminée de microbes donne des résultats très dissemblables. Telles sont les expériences 9, 10 et 11. Et, d'un autre côté, que ce ne sont pas toujours les plus grandes quantités de sérum qui donnent les meilleurs résultats. Par exemple, dans l'expérience 8, le 1er tube qui contient 0,09 c. c. de sérum ne présente aucune hémolyse, tandis que le 2e de l'expérience 6, qui en contient 0,1 c. c. donne une hémolyse légère au bout de 24 heures. D'autre part, le 1er tube de l'expérience 7, qui renferme 0,36 c. c. de sérum, commence à hémolyser déjà 2 heures après.

On dirait qu'en réalité la quantité du sérum spécifique n'a aucune influence et qu'il agit simplement par sa présence. Ce n'est pourtant pas tout à fait vrai. Quand on met l'immun-sérum, en quantité trop petite, à digérer avec les microbes, les résultats sont absoluments nuls; il faut monter quelquefois à 0,08 c. c. et même 0,15 c. c. de sérum pour voir le phénomène s'accomplir. Plusieurs expériences nous ont montré que ce n'est qu'à partir d'une certaine dose que le sérum commence à donner la réaction. Cette quantité est nécessaire pour amorcer l'expérience, les additions plus fortes ajoutent très peu aux résultats.

Mais cette dose minima est variable pour chaque sérum comme on devait s'y attendre. Ainsi, un sérum qui provient de l'Institut des maladies infectieuses de Berlin a donné, entre nos mains, un résultat très net à 0,1 c. c. et un autre, provenant de l'Institut sérothérapique de Berne, agit à 0,08 c. c., tandis qu'un de nos sérums anticholériques, préparé au laboratoire, ne commence à donner des résultats qu'à la quantité assez grande (0,15 c. c.).

En somme, aucun des facteurs que nous venons d'examiner n'exerce une action absolue sur l'apparition du pouvoir anti-hémolytique du sérum, aucun d'eux n'est capable, à lui seul, de

produire ce phénomène, et leur combinaison précise paraît difficile, sinon impossible à déterminer. Il faut croire aussi que certains vibrions confèrent, avec plus de facilité que d'autres, la propriété antihémolytique au sérum et que les diverses cultures d'un même vibrion se comportent différemment à ce point de vue.

II

Jusqu'à ce moment, nous n'avons parlé que du pouvoir antihémolytique que le sérum acquiert au contact des microbes contre lesquels il est préparé. Il nous faut maintenant rechercher quelle est la nature de cette action.

Exp. 17. — A cet effet, nous laissons agir, pendant quelque temps, l'immunsérum décanté sur chacun des divers constituants de la réaction et nous ajoutons les autres ensuite. Quatre cultures sur agar, du vibrion CK, sont délayées chacune dans 0,5 c. c. d'eau physiologique et versées dans un tube à centrifuger contenant 2 c. c. de sérum cholérique. Après 3 heures d'étuve, le mélange est centrifugé longuement et le liquide décanté est réparti dans 3 tubes, à raison de 0,08 c. c. pour chacun. Puis, au tube nº 1 on ajoute 0,05 de sérum hémolytique ; au nº 2, 0,05 c. c. de globules de bœuf lavés, et au nº 3, 0,1 c. c. d'alexine de lapin. On remet le tout pendant une heure à l'étuve et, ensuite, on complète chaque tube avec les éléments qui lui manquent.

						30 m.	2 h.	24 h.
1	Sérum 0,8 c. c.	S. hémol. 0,05 c. c.	1 h. d'étuve.	Glob. 0,05 c. c.	Alex. 0,1	+++	+++	++++
2	— —	Globules 0,05 c. c.		Alex. 0,1 c. c.	S. hém. 0,05	++++	++++	++++
3	— —	Alexine 0,1 c. c.		Glob. 0,05 c. c	S hém. 0,05	0	0	0

Dans toutes nos expériences de ce genre, c'est toujours le tube nº 3 qui présentait la déviation du complément. Une seule fois, le tube nº 1 a donné un résultat positif. Nous sommes donc autorisé à conclure que cette action du sérum, nouvellement acquise, est dirigée contre l'alexine. Le sérum devient donc anticomplémentaire, c'est-à-dire qu'il empêche le complément d'agir en le fixant, le détruisant ou lui imprimant des changements moléculaires qui le rendent incapable de porter son action sur le système hémolytique.

Nous ferons remarquer, et nous insistons sur ce fait, que ce pouvoir est toujours médiocre. La quantité d'alexine que le sérum peut absorber est bien inférieure à celle que les microbes peuvent fixer par eux-mêmes.

Ceci est tellement vrai que les auteurs qui se sont occupés de la réaction de Wasserman, comme Levaditi, Martin et Browning, Wasserman lui-même et ses collaborateurs, recommandent des doses d'alexine très petites.

III

ACTION DU SÉRUM SPÉCIFIQUE SUR LES VIBRIONS

Dans ce chapitre nous tâcherons d'approfondir le mécanisme par lequel l'immunsérum acquiert le pouvoir anticomplémentaire après avoir été traité par les microbes.

Deux hypothèses se présentent à l'esprit. D'abord, on pourrait supposer que le sérum spécifique possède normalement le pouvoir anticomplémentaire, mais qu'une substance formée pendant le traitement de l'animal empêche ce pouvoir de se manifester. Mis en contact avec les microbes, il cède à ceux-ci ladite substance et dès lors l'action complémentaire a lieu.

Si nous prenons en considération l'existence des antihémolysines dans les sérums normaux et si, d'un autre côté, nous nous rappelons que toutes les cellules enlèvent aux sérums. préparés contre elles, certaines substances, cette hypothèse paraît très plausible.

Malheureusement, dans ce cas particulier, les faits ne parlent pas en sa faveur. De ce que quelques anticorps se fixent sur les cellules, il ne s'ensuit pas que tous agissent de même. Parmi les nombreuses substances qui prennent naissance dans un sérum au cours de sa préparation, il pourrait y en avoir qui, non seulement ne se fixent pas aux cellules, mais enlèvent au contraire à celles-ci des corps qui s'y trouvent normalement. C'est notre seconde hypothèse que nous tâcherons de vérifier.

A la vérité, elle paraît contraire aux idées généralement admises, idées qu'Ehrlich et Bordet ont introduites dans la science et que confirme la manière dont se comportent les agglutinines, les hémolysines et les sels. Mais certains faits,

constatés par divers expérimentateurs, paraissent justifier cette conception, au moins dans quelques cas particuliers.

Pfeiffer et Friedberger [1] ont vu que les sérums normaux, après avoir été mis en contact avec les microbes cholériques ou typhiques, accusent des propriétés bactériolytiques qu'ils ne possédaient pas auparavant. Ils tâchent d'expliquer ce fait en supposant qu'un nouveau corps a été formé dans le sérum normal, après la fixation de ses ambocepteurs naturels par les microbes. Sachs [2], qui a répété les mêmes expériences au point de vue du pouvoir hémolytique, croit à l'action d'un anticomplément, dont la présence est masquée par la coexistence d'un ambocepteur normal. Ces savants, imbus des idées d'Ehrlich, ont omis de voir ce qui se passe du côté des cellules, après leur contact avec le sérum. Besredka [3], en mettant du sérum normal de cheval en présence des bacilles typhiques et pesteux desséchés, remarque que, toutes les fois qu'il y a agglutination, l'endotoxine des microbes passe en grande partie dans le sérum, qui devient toxique. Enfin, W. Manwaring [4], ayant trouvé que le sérum normal de chèvre mis en présence des globules de mouton subit certains changements, a examiné ce que deviennent les globules qui ont été traités avec le sérum et même l'eau physiologique. Ses expériences lui ont montré que ceux-ci se laissent hémolyser plus facilement que les globules normaux dans certaines circonstances.

Exp. 18. — On verse, dans trois tubes à centrifuger, 0,5 c. c. d'eau physiologique et on délaie deux anses de platine d'une culture sur agar du vibrion CK. Dans les tubes nº 1 et 2 on ajoute 0,1 c. c. de sérum spécifique et on garde le nº 3 comme témoin. Le tout est mis à l'étuve pendant une

Nos d'ordre.	Sérum spécifique.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS		
					1 heure.	3 heures.	24 heures.
1	0,1 c. c.	0,4 c. c.	0,6 c. c.	1 c. c.	+	++	+++
2	0,1 c. c.	—	0,5 —	—	0	0	0
3	—	—	0,6 —	—	0	0	+

1. *D. med. Woch.*, nº 1, 1905.
2. *D. med. Woch*, 4 mai 1905.
3. *An. Inst. Pasteur*, 25 juillet 1905.
4. *Journ. inf. Dis.*, nº 1, 1908.

heure. Après ce laps de temps, les trois tubes sont centrifugés, mais on ne décante que le liquide du premier tube, qu'on remplace par 0,6 c. c. d'eau physiologique. On ajoute, à tous les tubes, 0,4 c. c. d'alexine de lapin, on laisse une heure à l'étuve et en verse le système hémolytique.

Le tube n° 1 hémolyse plus que le témoin, tandis que celui dans lequel le sérum est resté en présence des vibrions n'hémolyse pas du tout. Le sérum mis dans le tube n° 1 a donc entraîné avec lui, après sa décantation, une substance que les vibrions contenaient normalement et qui favorisait l'absorption de l'alexine, sans le concours d'un adjuvant.

Il est à remarquer que cette perte de substance est proportionnelle au pouvoir fixateur que le sérum décanté acquiert.

Exp. 19. — Trois cultures sur agar du vibrion CK sont émulsionnées chacune dans 0,6 c. c. d'eau physiologique et versées respectivement dans trois tubes à centrifuger, dont chacun contient 0,4 c. c. de sérum. Une heure d'étuve. Centrifugation et décantation du liquide surnageant, qui est mis dans trois tubes différents, à raison de 0,9 c. c. par tube. Addition de différentes quantités d'alexine, indiquées dans le tableau; une heure d'étuve, puis système hémolytique.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité.	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS		
						1 heure.	2 heures.	24 heures.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c.	—	1 c. c.	0	+	++
2	0,9 —	—	0,08 —	0,02 c. c.	—	0	0	0
3	0,9 —	—	0,05 —	0,05 —	—	0	0	0
4	—	0,9 c. c.	0,05 —	0,05 —	—	+	+++	+++

Sur le dépôt des trois tubes à centrifuger, on verse de la même alexine en quantités diverses et on complète, avec de l'eau physiologique, jusqu'à concurrence de 1 c. c. On met pendant une heure à l'étuve. On fait subir le même traitement à une quatrième culture sur agar du même vibrion, qui n'a eu aucun contact avec le sérum et, ensuite, on ajoute à tous les tubes le système hémolytique. Le tube n° 4 sert de témoin.

Nos d'ordre.	Eau physiologique.	Alexine de lapin.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS		
				1 heure.	2 heures.	24 heures.
1	0,9 c. c.	0,1 c. c.	1 c. c.	0	0	0
2	0,8 —	0,2 —	—	0	0	+
3	0,7 —	0,3 —	—	0	+	++
4	0,7 —	0,3 —	—	0	0	+

Exp. 20. — Pour l'expérience suivante, on a délayé 4 anses de platine du

même vibrion dans chacun des trois tubes à centrifuger, contenant 0,6 c. c. d'eau physiologique et 0,4 c. c. de sérum spécifique. On laisse reposer une heure dans l'étuve, puis on centrifuge et décante le liquide surnageant, qu'on traite de la même façon que dans l'expérience précédente.

Nos d'ordre.	Dilution du sérum traité	Dilution du sérum non traité.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	SYSTÈME hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 1 h.	2 heures.	24 h.
1	0,9 c. c.	—	0,1 c. c	—	1 c. c.	+++	++++	—
2	0,9 —	—	0,08 —	0,02 c. c.	—	+++	+++	+++
3	0,9 —	—	0,05 —	0,05 —	—	+	+	++
4	—	0,9 c. c.	0,05 —	0,05 —	—	++	++	++

Voici maintenant ce que les dépôts ont donné :

Numéros d'ordre.	Eau physiologique.	Alexine de lapin.	Système hémolytique.	RÉSULTATS APRÈS 1 heure.	2 heures.	24 heures
1	0,9 c. c.	0,1 c. c.	1 c. c.	0	0	0
2	0,8 c. c.	0,2 c. c.	1 c. c.	0	0	0
3	0,7 c. c.	0,3 c. c.	1 c. c.	0	0	+
4	0,7 c. c.	0,3 c. c.	1 c. c.	0	0	+

Nous avons cité cette dernière expérience parce qu'elle est significative. Le sérum n'a gagné aucune activité anticomplémentaire par le contact des microbes et les vibrions ont gardé, en entier, le pouvoir de neutraliser le complément, malgré le traitement qu'ils ont subi.

C'est donc le passage de cette substance dans le sérum qui donne à ce dernier le pouvoir anticomplémentaire. La quantité qui est enlevée aux microbes paraît être minime, parce qu'elle n'égale en aucune façon celle que les microbes possèdent normalement. 0,1 c. c. d'alexine absorbée par le sérum est déjà une limite très élevée, tandis que les microbes, en quantité égale à celle qui a servi pour traiter le sérum, peuvent neutraliser 0,3 c. c. et même 0,4 c. c. du même complément. Ceci a de l'importance parce que, quand on ne sépare pas les microbes

du sérum, mais que l'on essaie la réaction en présence de ces deux corps, la quantité d'alexine absorbée est énorme. Elle dépasse souvent le double de la somme que microbes et sérum peuvent fixer chacun séparément.

Exp. 21. — On délaie dans chacun des 9 tubes, deux anses de platine d'une culture de CK et l'on verse, dans les 5 premiers tubes, 0,1 c. c. de sérum cholérique. On laisse le tout à l'étuve pendant une heure; on ajoute les quantités d'alexine indiquées sur le tableau, on remet à l'étuve pendant une heure et on ajoute le système hémolytique.

Nos d'ordre.	Sérum cholérique.	Eau physiologique.	Alexine de lapin.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS			
					30 min.	1 heure.	3 heures.	24 heures.
1	0,1 c.c.	0,7 c.c.	0,2 c.c.	1 c. c.	0	0	0	0
2	—	0,6 c.c.	0,3 c.c.	—	0	0	0	0
3	—	0,5 c.c.	0,4 c.c.	—	0	0	0	0
4	—	0,4 c.c.	0,5 c.c.	—	0	0	0	0
5	—	0,3 c.c.	0,6 c.c.	—	0	0	0	0
6	»	0,8 c.c.	0,2 c.c.	—	0	0	0	presque 0
7	»	0,7 c.c.	0,3 c.c.	—	0	0	0	+
8	»	0,6 c.c.	0,4 c.c.	—	0	0	+	+
9	»	0,5 c.c.	0,5 c.c.	—	+	+	++	+++

Ce n'est certainement pas le sérum à lui seul qui fixe le complément ; ce ne sont pas non plus les microbes, dépouillés en partie de leur substance fixatrice, qui peuvent absorber cette énorme quantité d'alexine. C'est la combinaison du sérum avec la substance sécrétée par les microbes qui augmente considérablement l'action. Moreschi avait donc raison quand il soutenait que le pouvoir anticomplémentaire, pour entrer en fonction, a besoin de deux corps, l'un qui se trouve dans le sang des animaux traités et l'autre qui existe normalement dans l'antigène qui sert au traitement. L'existence de ces deux substances devient évidente dans nos expériences, parce qu'elles nous permettent de dissocier le phénomène.

En employant des cellules microbiennes, au lieu de l'alexine

de chèvre, comme l'a fait Moreschi, il nous a été possible de séparer les deux corps après leur action réciproque et d'étudier les échanges qui ont eu lieu chez chacun d'eux séparément. Nous avons pu voir clairement que le sérum spécifique qui, normalement, n'a aucune action anticomplémentaire, après un contact plus ou moins long avec les microbes, gagne ce pouvoir, tandis que ceux-ci le perdent en partie. Le sérum enlève donc aux vibrions une substance qui a la propriété de neutraliser ou de fixer le complément et qui préexiste dans les derniers.

Nous tenons à faire remarquer que nous employons le terme anticomplémentaire dans son sens le plus large. Pour nous, ce terme signifie que l'action de l'un ou l'autre corps est dirigée contre le complément, sans nous soucier s'il y a fixation ou neutralisation ou tout autre processus.

Mais notre expérience 21 nous montre que la présence simultanée des deux facteurs donne des résultats bien plus prononcés. On y voit que les microbes, à eux seuls, neutralisent à peine 0,2 c. c. d'alexine, tandis qu'en présence du sérum ils en fixent plus de 0,6 c. c. Nous savons, d'un autre côté, que le sérum qui a subi le contact des microbes ne détruit qu'une quantité minime de complément. C'est donc que le sérum enlève aux microbes très peu de substance fixatrice, tandis que, s'il continue à être en contact avec eux, il active d'une façon prononcée la substance qu'ils contiennent.

Ce phénomène présente une grande analogie avec ce que le docteur Richet a appelé anaphylaxie.

Là, comme dans notre cas, l'anticorps, inoffensif, devient actif quand il s'unit à l'antigène; là, comme ici, l'antigène, toxique par lui-même, au lieu d'être neutralisé par l'anticorps, acquiert au contraire une nocivité considérable en sa présence.

IV

ACTION DU SÉRUM NORMAL

Il nous reste encore un point à éclaircir. Puisque les microbes sont capables de fixer par eux-mêmes une forte quantité d'alexine, comment se fait-il que dans les tubes témoins, de la réaction de Bordet, où l'on remplace le sérum

spécifique par le sérum normal chauffé, il y a une hémolyse presque constante, tout en employant des doses d'alexine inférieures à celle que les microbes peuvent absorber?

Comparons d'abord le pouvoir d'absorption des microbes en présence du sérum normal et en son absence.

Deux anses de platine d'une culture sur agar du vibrion CK sont délayées dans chaque tube. Le sérum normal de lapin, l'alexine et l'eau physiologique sont versés en même temps et le système hémolytique ajouté après une heure d'étuve.

Nos d'ordre.	Eau physiologique.	Alexine de lapin.	Sérum normal de lapin	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS 30 m.	1 heure.	3 heures.	24 heures.
1	0,7 c. c.	0,2 c. c.	0,1 c. c.	1 c. c.	0	0	0	0
2	0,6 —	0,2 —	0,2 —	—	0	0	0	0
3	0,5 —	0,2 —	0,3 —	—	0	0	0	0
4	0,4 —	0,2 —	0,4 —	—	0	0	0	0
5	0,3 —	0,2 —	0,5 —	—	0	+	+	+
6	0,55 —	0,05 —	0,4 —	—	0	0	0	0
7	0,5 —	0,1 —	0,4 —	—	0	0	0	0
8	0,3 —	0,3 —	0,4 —	—	0	+	+	+
9	0,2 —	0,4 —	0,4 —	—	+	+	+	++
10	0,1 —	0,5 —	0,4 —	—	+	+	++	+++
11	0,8 —	0,2 —	—	—	0	0	0	0
12	0,7 —	0,3 —	—	—	0	0	+	+
13	0,5 —	0,5 —	—	—	+	+	+	++

Dans d'autres expériences, et avec le sérum normal chauffé de certains lapins, l'hémolyse commence avec 0, 2 c. c. d'alexine pour 0, 3 c. c. de sérum, tandis que la même quantité des microbes absorbe complètement 0, 3 c. c. d'alexine, si l'on a soin de ne pas ajouter du sérum normal de lapin.

Le sérum normal chauffé favorise donc l'hémolyse. Cette propriété a été signalée par maints auteurs. Nous avons, nous même, constaté dans des expériences inédites, que le sérum chauffé de lapin renforce considérablement l'hémolysine naturelle de cobaye pour les globules de mouton. W. Manwaring a étudié, d'une façon particulière, sur le sérum normal de la

chèvre, ce pouvoir qu'il appelle auxilytique (et que nous nommerions volontiers épilytique, terme plus conforme au génie de la langue grecque).

Mais, à côté de cette action, le sérum normal chauffé possède aussi celle d'empêcher les microbes d'agir sur l'alexine.

Exp. 23. — Dans trois tubes, contenant chacun 0,2 c.c. d'eau physiologique, nous délayons deux anses de platine d'une culture sur agar du vibrion CK et nous versons immédiatement après 0, 3 c. c. d'alexine de lapin et en même temps, dans le tube n° 1 seulement, 0, 5 c. c. de sérum normal de lapin chauffé à 56° pendant une demi-heure. Nous mettons le tout à l'étuve pendant une heure, puis nous ajoutons le système hémolytique, en ayant soin de verser dans le tube n° 2 0, 5 c. c. de sérum normal de lapin.

Nos d'ordre.	Sérum normal de lapin.	Alexine de lapin.	Eau physiologique.	Système hémolytique.	RÉSULTAT APRÈS			
					30 min.	1 heure.	3 heures.	24 h.
1	0,5 c. c.	0,3 c. c.	0,2 c. c.	1 c. c.	0	0	+	++
2	0,5 c. c.	—	0,2 c. c.	—	0	0	0	0
3	—	—	0,7 c. c.	—	0	0	0	0

Dans le tube n° 1, l'hémolyse est appréciable, tandis que dans le n° 2 il n'y en a pas trace. Le sérum normal, mis en même temps que l'alexine, a empêché celle-ci de se fixer sur les microbes, tandis que dans le tube n° 2 il a été mis trop tard pour exercer une action quelconque.

CONCLUSIONS

1° Les vibrions sont capables d'absorber une quantité assez forte d'alexine, sans le concours d'aucun adjuvant;

2° Le sérum spécifique, au contact des vibrions, enlève une partie de la substance que ces derniers contiennent normalement et qui a la propriété d'agir sur l'alexine. C'est cette substance qui, après son passage dans le sérum, confère à celui-ci le pouvoir anticomplémentaire ;

3° L'anticorps spécifique du sérum, en se combinant avec elle, active considérablement son action. Il joue par conséquent, envers celle-ci, le rôle de kinase.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNEE OCTOBRE 1908. N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

L'Aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets.

(Suite.)

Par M. A. TRILLAT

(Avec la pl. X.)

DEUXIÈME PARTIE

Étude des circonstances qui influent sur la formation de l'aldéhyde acétique.

On peut conclure des essais précédents que la formation d'un dépôt de matière colorante de vin rouge aura lieu chaque fois qu'une circonstance quelconque fera naître l'aldéhyde ou viendra augmenter les proportions y existant déjà. Ce sont ces circonstances que je vais étudier.

Les principales sont : l'aération et l'agitation du vin; le vieillissement; la présence de levures ou de germes accompagnant les maladies; la présence de diastases oxydantes ou de porteurs d'oxygène, comme le fer ou le manganèse. Nous les examinerons en suivant cet ordre.

1. *Aération et agitation du vin.*

Le vin agité ou même simplement exposé à l'air s'aldéhydifie lentement, mais toujours plus rapidement que les solutions alcooliques de même degré. Les expériences suivantes en donnent la preuve.

TABLEAU VIII

Nature du Vin.	Aldéhyde en millig. 0/00 au moment de l'expérience.	Après 1 heure d'agitation.	Après 4 heures d'agitation.	Après 12 heures d'exposition à l'air
Vin rouge. 10°	15	35	48	20
Vin rouge. 9°	5	30	55	25
Vin rouge. 9°	25	28	75	38
Vin rouge. 8°,5	25	38	55	40
Alcool à 10°	5	10	12	10

La proportion d'aldéhyde formée augmente avec la nature des récipients du vin, le contact avec des corps poreux ou divisés : c'est le même cas que pour l'alcool[1].

La teneur en aldéhyde du vin agité ou exposé à l'air varie avec la température, la nature des parois et leur degré de porosité, l'exposition à la lumière et le degré d'acidité. La présence d'une petite quantité d'acide sulfureux agit favorablement.

TABLEAU IX

VINS	ALDÉHYDE en milligr. par litre.
Vin témoin....................................	15
Même vin exposé à la lumière (verre).............	22
— — 100 millig. SO^2...................	40
— — 1/5000 HCl........................	33
— — — (récipient en cuivre)...	65

M. Mathieu avait déjà signalé que l'acide sulfureux favorisait l'aldéhydification du vin blanc[2].

Le vin se comporte donc de la même manière que les solutions aqueuses d'alcool, mais le phénomène semble amplifié.

1. *C. R. de l'Ac. des Sciences*, 1903, p. 171.
2. *Bull. de l'Assoc. des Chimistes*, 1906.

2. *Vieillissement.*

La proportion d'aldéhyde acétique *totale* augmente au cours du vieillissement des vins et des eaux-de-vie. Ainsi, les vins rouges âgés contiennent souvent plus de 100 milligrammes d'aldéhyde totale (en partie combinée) par litre, dose que n'atteignent pas les vins nouveaux sains.

TABLEAU X

		Aldéhyde totale exprimée en millig. par litre.
Chambertin	1894	135
Savigny	1899	150
Saint-Avertin	1893	190
Beaune Hospice	1885	180
Vavaroge	1896	105

Ces chiffres ne représentent pas toute l'aldéhyde, car nous avons vu, dans la 1re partie de ce travail, que les dépôts de vin en contenaient des quantités appréciables.

Même remarque pour les eaux-de-vie. Schidrowitz[1], qui a fait une étude sur le vieillissement du wisky a constaté aussi une augmentation notable d'aldéhyde.

2. *Action des microorganismes : maladies.*

L'aldéhyde acétique a déjà été signalée comme accompagnant certaines fermentations alcooliques. Linossier et Roux ont trouvé ce corps dans la fermentation du glucose sous l'influence du champignon du muguet; Roeser[2], dans un remarquable travail, a aussi constaté sa présence dans un grand nombre de fermentations provenant de l'ensemencement des moûts avec une variété de levures de raisins de divers cépages. Duclaux[3] a confirmé ces résultats dans la fermentation alcoolique provo-

1. *Revue internat. des falsifications*, 1903, p. 101.
2. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1893, p. 41.
3. *Traité de Microbiologie*, t. III, p 431.

quée par la levure de lactose. MM. Kayser et Demolon[1], de leur côté, ont trouvé que les liquides alcooliques provenant des moûts ensemencés par diverses levures, et en contact avec ces levures, contenaient après six mois des proportions d'aldéhyde s'élevant jusqu'à plusieurs centaines de milligr. du poids de l'alcool.

Enfin, M. Sauton et moi-même[2] avons montré que plusieurs levures pures de lactose, retirées du fromage, donnaient des proportions d'aldéhyde acétique variant de 35 à 80 milligr. par litre du liquide ensemencé.

C'est le cas, à propos du vin, de signaler la facilité avec laquelle l'alcool éthylique peut s'aldéhydifier sous l'influence des levures alcooliques. Nous avons démontré, M. Sauton et moi[3], que la levure pressée de boulanger, agitée dans des conditions déterminées avec de l'alcool à 10°, était capable d'oxyder l'alcool au point d'en pouvoir retirer directement l'aldéhyde par distillation. L'aldéhydification est même beaucoup plus intense qu'en présence des corps poreux, comme l'indique le tableau suivant :

TABLEAU XI

ESSAIS AVEC LEVURES		COMPARAISON avec diverses substances poreuses.	
Solutions alcooliques.	Aldéhyde acétique 0/0 d'alcool à 100° (en milligr.)	Substances.	Aldéhyde formée
Sans levures........	traces	noir de platine	< 200
Avec levures. Alcool à 0,5 0/0.	traces	noir animal	< 100
Avec levures. Alcool à 2,5 0/0.	1800	coke	< 50
Avec levures. Alcool à 5 0/0..	2500	tourbe	< 50
Avec levures. Alcool à 10 0/0 (moy. de 18 ess.)	1100	sciure	< 50
Avec levures. Alcool à 50 0/0.	600	ponce	< 80

L'aldéhydification du vin sous l'influence des germes est manifeste : les vins malades envahis par des mycodermes ou

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.*, juillet 1907, p. 205.
2. *C. R.*, 1903, p. 161 ; *id.*, 31 déc. 1906. — *Ann. de l'Inst. Pasteur*, avril 1908.
3. *C. R.*, 1908, 11 mai

des bactéries contiennent souvent des doses d'aldéhyde très élevées que l'on ne rencontre pas dans les vins sains.

Voici, par exemple, des résultats donnés par des vins envahis par le *mycoderma vini*, comparativement à leur témoin.

TABLEAU XII

	ALDÉHYDE en milligrammes par litre.
I. Vin témoin	80
Vin envahi par le mycoderma vini	15
II. Vin témoin (d'après M. Rocques)	135
Vin envahi par le mycoderme (d'après M. Rocques)	245

Des vins rouges ensemencés par le ferment acétique et comparés avec les vins témoins placés dans les mêmes conditions d'observation se sont comportés d'une manière analogue.

TABLEAU XIII

	ALDÉHYDE en milligr. par litre.
I. Vin rouge témoin	Traces
Vin ensemencé par le ferment acétique	155
II. Vin rouge témoin	18
Vin ensemencé par le ferment acétique	115

On verra plus loin que l'analyse des vins atteints de la maladie de l'amertume donne encore des chiffres dans le même sens.

Ces résultats confirment ceux de M. Dubourg[1] qui a trouvé que toute une variété de levures et de microorganismes étaient capables de produire l'aldéhydification de l'alcool jusqu'à concurrence de 200 milligr. d'aldéhyde par litre.

Il arrive souvent que l'aldéhyde constatée dans un vin malade

1. *Étude sur l'Helycomycelium fuliginosum* (Mém. de la *Soc. des Sc. Phys. et Nat.* de Bordeaux, 1903, t. III.)

disparaît brusquement : M. Sauton et moi[1], dans le travail déjà cité plus haut, avions déjà attiré l'attention sur ce fait que, en présence de levures, l'aldéhyde acétique d'une solution alcoolique disparaissait et reparaissait plus ou moins rapidement, selon des circonstances d'aération de température, etc. Ainsi une solution alcoolique d'aldéhyde au 1/1000 en contact avec de la levure fraîche n'en contenait plus que 1/6000 après 24 heures et 1/25000 après 4 jours. Par agitation ou exposition il se formait de nouveau de petites proportions d'aldéhyde.

Les mêmes expériences répétées sur le vin rouge ont donné des résultats semblables.

C'est au début de la maladie que l'aldéhyde semble se trouver en plus grande proportion.

***

L'influence des levures sur l'aldéhydification du vin et sur la formation ultérieure du dépôt est directement démontrée par l'expérience suivante :

On agite du vin dans les mêmes conditions, isolément et en présence de levure purifiée et débarrassée de toute trace d'aldéhyde. On a dosé comparativement l'aldéhyde après agitation ; les vins après filtration ont été mis en observation et on a noté la date de l'apparition du dépôt.

TABLEAU XIV

VINS TÉMOINS ET ESSAIS	ALDÉHYDE exprimée en milligr. par litre.	OBSERVATIONS SUR LA FORMATION DU DÉPOT APRÈS FILTRATION DU VIN	
		Après 15 jours.	Après 1 mois.
Vin témoin avant agitation......	20	Néant.	Néant.
Vin témoin après agitation (2 h.)	28	Néant.	Néant.
Vin témoin après agitation (6 h.)	40	Néant.	Néant.
Vin avec levures après 2 heures..	80	Néant.	Trouble.
Vin avec levures après 6 heures..	105	Trouble.	Dépôt.

Cette aldéhydification du vin sous l'influence des levures, jointe à la propriété désodorisante bien connue de l'aldéhyde

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1908, 11 mai.

acétique, justifie la pratique recommandée par quelques œnologues d'agiter avec des levures le vin doué d'odeur putride.

3. *Diastases oxydantes : casses ferriques.*

On a beaucoup discuté sur l'origine de cette maladie; M. A. Gautier l'a attribué à l'action d'un microbe filamenteux. M. Bouffard a cru, au contraire, à une action purement chimique. Gouirand a indiqué l'intervention d'une diastase, mais sans dire si elle était oxydante. Les expériences de M. G. Bertrand ont démontré, à la suite des recherches de Martinand, que la laccase jouait un rôle important dans la casse du vin. C'est ainsi qu'en additionnant un vin rouge de 1/1000 de laccase, M. Bertrand a constaté que le vin précipitait en même temps qu'il y avait changement de teinte, formation d'un bouquet et précipitation de la matière colorante [1].

Dans les vins atteints de la casse, les proportions d'aldéhyde sont très variables, mais elles atteignent parfois des chiffres que l'on ne rencontre jamais dans les vins sains. Ainsi Cazeneuve a signalé la présence d'aldéhyde à des doses anormales dans des vins cassés. Martinand en a trouvé 200 et 300 milligrammes dans deux cas ; Pottevin a obtenu une dose encore supérieure à ces chiffres. Par contre, Dubourg [2] n'en a pas eu dans les échantillons de vins cassés qu'il a examinés.

Ces différences s'expliquent : l'aldéhyde peut disparaître rapidement sous certaines influences et se reformer de nouveau, comme je l'ai indiqué. C'est ce qui se produit, par exemple, d'une façon très nette dans la casse ferrique artificielle que je vais étudier, comme type d'un vin contenant une oxydase artificielle.

Etude sur la casse ferrique artificielle.

Je rappellerai que l'action néfaste du fer sur le vin est connue depuis fort longtemps et redoutée des viticulteurs. Désigné sous le nom de « casse ferrique » le phénomène qui en résulte est caractérisé par une altération profonde du vin : la matière colorante est précipitée en même temps que le vin prend un goût de *faux vieux*.

1. *Annales agronomiques*, 1896, p. 130.
2. *Loc. cit.*

Pour suivre la marche de l'aldéhydification, j'ai additionné des échantillons de vin rouge d'une très petite quantité de fer métallique à l'état de limaille; d'autres échantillons renfermaient une dose de 1/5000 de perchlorure de fer. Une partie de ces vins était exposée à l'air dans des flacons ouverts à l'abri de toute agitation; l'autre était en flacons bouchés, en contact avec une quantité limitée d'air. Cette disposition permettait d'étudier en même temps l'influence de l'aération.

Le tableau suivant indique le résultat des expériences.

TABLEAU XV

OBSERVATIONS Après		ACIDITÉ PAR LITRE Nombre de c. cubes en NaOH $\frac{N}{10}$		ALDÉHYDE Expr. en mill. 0/00	
		air.	air limité.	air.	air limité.
4 heures	Témoin	9,5	9,5	86.	6.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	90.	86.
	Fe	8.	9.	90.	86.
6 heures	Témoin	9,5	9,5	86	85.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	95.	90.
	Fe	6,7	8,2	92.	90.
24 heures	Témoin	9,5	7,8	90.	86.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	100.	95.
	Fe	6.	8.	115.	100.
30 heures	Témoin	9,5	9,5	90.	88.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	115.	100.
	Fe	5,4	8	130.	100.
34 heures	Témoin	9,5	9,5	92.	86.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	130.	100.
	Fe	5,2	8.	160.	00.
40 heures	Témoin	9,5	9,5	95.	86.
	Fe^2Cl^6	9,5	9,5	140.	100.
	Fe	5.	8.	195.	100.

Après 8 jours on a constaté que l'aldéhyde allait en diminuant : elle avait disparu après trois semaines et de nouveau réapparu dans la suite.

Les résultats de ces essais montrent :

1° Que l'aldéhydification du vin sous l'influence du fer est extrêmement rapide;

2° Que la dose d'aldéhyde produite, environ 200 milligrammes, serait suffisante pour provoquer à elle seule l'insolubilisation de la matière colorante du vin, indépendamment du dépôt attribuable à l'oxydation de la matière colorante sous l'influence du fer;

3° Que l'aération du vin a favorisé l'aldéhydification;

4° Que l'aldéhyde peut disparaître et se former de nouveau.

Remarquons que le même tableau montre que le fer agit encore aussi bien à l'état métallique qu'à l'état de sel. Dans l'expérience citée, le fer métallique en excès s'est peu à peu combiné aux acides du vin, comme on peut s'en rendre compte par l'abaissement de l'acidité totale.

Le manganèse employé dans les mêmes conditions a donné des résultats analogues, quoique un peu plus longs à se produire.

***

Comme application des précédentes observations, on peut maintenant se demander si le dépôt observé au cours des précédents essais et, par analogie, si le dépôt provenant de la véritable casse oxydasique [1], est dû uniquement à un dépôt aldéhydique, plutôt qu'à l'oxydation directe de la matière colorante par le fer. On sait, en effet, que les matières colorantes du vin rouge sont très oxydables. Martinand [2] a indiqué que des matières colorantes très voisines de celles des vins fournissaient rapidement des dépôts par addition de diastases oxydantes en l'absence de toute trace d'alcool et par conséquent d'aldéhyde acétique : il en est de même de moûts de raisin avant fermentation.

1. Les résultats que je viens de signaler en expérimentant sur le vin additionné d'un sel de fer ne doivent pas être confondus à l'avance avec ceux qui résulteraient de l'étude d'un vin à casse oxydasique très rapide. N'ayant pu me procurer, malgré mes efforts, un semblable vin au début de sa maladie, cette étude n'a pas été faite.

2. *C. R. de l'Ac. des Sc.*, juillet 1907, p. 1439.

La dualité d'action est évidente. En effet, si l'on admet à la suite de ces observations que la matière colorante du vin rouge fournit des dépôts par oxydation directe, il est également hors de doute, par ce que nous savons, que les doses d'aldéhyde signalées plus haut, provenant de l'oxydation de l'alcool sous l'influence de diastases oxydantes, sont suffisantes pour provoquer rapidement, et à coup sûr, la formation d'un dépôt. Il n'est pas difficile de conclure que les deux actions peuvent être connexes, *l'une pouvant précéder l'autre* selon les circonstances de composition, de température, etc. On peut en effet facilement prouver que l'action précipitante due à l'aldéhyde peut précéder l'action due à un oxydant. Ainsi, dans l'exemple précédent, des vins témoins additionnés de 1/3000 d'aldéhyde ont troublé avant le vin additionné de 1/10000 de perchlorure de fer.

Enfin, je signalerai encore une particularité qui établit une fois de plus l'analogie qui existe entre les vins cassés et les vins soumis à l'action de l'aldéhyde. En abandonnant à l'abri de toute agitation des vins rouges additionnés d'aldéhyde, la plupart d'entre eux présentent, outre les caractères que j'ai déjà fait connaître, une singularité particulière : la couche supérieure se revêt d'une pellicule irisée à reflet métallique. L'expérience est très facile à reproduire.

Or, pareil phénomène s'observe dans la casse des vins : M. Bouffard a précisément indiqué que dans la casse bleue la précipitation était accompagnée d'une mince couche de matière à reflet métallique qui se formait à la surface du vin.

CONCLUSION

En résumé, les dépôts provenant de vins cassés sont justiciables à la fois d'une précipitation aldéhydique et d'une oxydation de la matière colorante. Ces deux actions peuvent être simultanées ou l'une précéder l'autre, en étant plus ou moins considérable, selon les circonstances.

(*A suivre.*)

Recherches sur l'incubation dans la syphilis

Par C. LEVADITI et T. YAMANOUCHI

(Avec les pl. XI, XII, XIII et XIV).

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

L'apparition du chancre syphilitique est précédée par une période d'incubation dont la durée varie suivant l'origine du virus et l'espèce animale, mais qu'on ne peut abréger en deçà d'une certaine limite.

Nous avons recherché quelle peut être la raison de cette incubation, en nous adressant à l'expérimentation et en choisissant, comme matériel d'étude, la kératite que l'on provoque chez le lapin, en inoculant le virus spécifique dans la chambre antérieure de l'œil. La richesse en tréponèmes de cette kératite d'une part, la pureté du virus de passage d'autre part, ont facilité nos études, que nous avons eu soin de compléter par des expériences faites sur un chimpanzé et sur des catarrhiniens inférieurs.

A priori, deux hypothèses peuvent être invoquées pour expliquer la durée de la période d'incubation. D'après la première, on pourrait penser que le tréponème, étant un microorganisme apparenté aux protozoaires, doit accomplir un cycle évolutif avant d'arriver au stade de spirochète. Les lésions du syphilome primaire ne pouvant être engendrées que par des parasites adultes et spirillés, l'incubation correspondrait aux diverses phases que le tréponème traverse pour achever son évolution[1]. D'après le seconde hypothèse, la plus plausible, le microbe de la syphilis, par suite de sa fragilité et de ses exigences nutritives, est un parasite qui s'adapte difficilement à tout nouveau milieu et qui se multiplie avec une certaine lenteur, du moins dans les premiers moments qui succèdent à son inoculation. Sa pullulation et par suite, la genèse des altérations histologiques qui en sont la conséquence, doivent donc exiger un temps assez

1. On sait que Krzysztallowicz et Siedlecki (*Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie*, 1905, n° 9, p. 713) ont soutenu l'existence d'un cycle évolutif chez le *Treponema pallidum*; les affirmations de ses auteurs n'ont pas été confirmées depuis.

long; ce temps correspondrait à la période d'incubation.

Nos recherches, que nous avons déjà résumées brièvement ailleurs[1], nous ont montré le bien fondé de cette dernière manière de voir. Nous les exposerons en détail dans ce qui suit, en examinant tout d'abord l'évolution de la kératite spécifique chez le lapin, ensuite le sort du tréponème pendant l'incubation qui précède l'éclosion du syphilome primaire chez le chimpanzé et les simiens inférieurs.

I

RECHERCHES SUR LA KÉRATITE SYPHILITIQUE DU LAPIN

Technique. Nous nous sommes servis d'un virus provenant de *M. Bertarelli*[2] et que nous devons à l'obligeance de M. *Uhlenhuth.* Ce virus avait déjà fait de très nombreux passages sur le lapin; actuellement son activité est accusée pour cette espèce animale, puisque la grande majorité des animaux inoculés prennent la kératite après une incubation qui varie entre 30 et 40 jours. Nous avons infecté les animaux en procédant de la façon suivante:

Un lapin porteur de lésions cornéennes manifestes est sacrifié, l'œil est énuclé et lavé plusieurs fois dans de l'eau salée isotonique stérilisée. On ponctionne la chambre antérieure à l'aide d'un couteau de Graefe et on excise la portion de cornée qui paraît le plus lésée. Puis, avec des ciseaux stériles, on découpe cette portion en petits fragments d'un à deux millimètres de côté, et, à l'aide d'une pince fine, on les introduit dans la chambre antérieure des lapins neufs. Pour ce faire, on ouvre la chambre antérieure près du limbe, au moyen d'un couteau triangulaire, et on y glisse le fragment, en ayant soin de ne pas dilacérer l'iris[3]. Les animaux sont sacrifiés à des intervalles variables au cours de la période d'incubation et même lorsque la kératite devient macroscopiquement apparente. L'œil est fixé dans du formol à 10 0/0, et l'étude histologique est faite après imprégnation des tissus par le procédé à l'argent-pyridine (*Levaditi* et *Manouélian*).

ÉVOLUTION DU TRÉPONÈME ET DES ALTÉRATIONS MICROSCOPIQUES

a) PREMIÈRE PHASE. Comme l'ont vu les auteurs qui ont étudié la kératite spécifique du lapin, entre autres SCHERBER[4], GREEF et

1. LEVADITI et YAMANOUCHI, *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1908, vol. LXIV, p. 50 et 313.
2. BERTARELLI, Transmission de la syphilis à la cornée du lapin, *Rivista d'Igiene*, 1906, vol. XVII et XVIII.
3. Cette technique nous a été indiquée par M. LÖHE de la clinique du prof. LESSER; nous le prions de recevoir nos remerciements.
4. SCHERBER, *Wien. klin. Woch.*, 1906, n° 24, p. 726.

Clausen[1] et Hoffmann[2], l'inoculation du virus dans la cornée ou dans la chambre antérieure, engendre une réaction inflammatoire accentuée pendant les premiers jours qui succèdent à l'opération. Cette réaction finit par disparaître et la cornée redevient bientôt transparente, pour se maintenir dans cet état aussi longtemps que dure la période d'incubation. Après 30, 35 ou 40 jours, commencent les premières manifestations de la kératite, bien décrites par Bertarelli et par ceux qui ont confirmé ses recherches.

Si l'on sacrifie les animaux le 2e ou le 3e jour après l'introduction du fragment cornéen dans la chambre antérieure, on constate les lésions suivantes :

Le fragment de cornée inoculé (*ancienne cornée*[3]) ne montre encore aucun signe d'organisation. On n'y décèle que des cellules cornéennes disposées entre les lamelles, un épithélium de recouvrement et des vestiges de la membrane de Descemet. Ce fragment est entouré d'un exsudat fibrineux, assez riche en leucocytes mono et polynucléaires. L'exsudation remplit une partie de la chambre antérieure et rattache l'*ancienne cornée* d'une part à l'iris, et d'autre part à la face profonde de la *nouvelle cornée*.

Les tréponèmes sont en petit nombre et leur pullulation est pour ainsi dire nulle à ce moment. On les découvre dans l'*ancienne cornée*, disséminés entre les lamelles et aussi, très rares, dans l'exsudat fibrineux. Certains des parasites inclus dans le fragment cornéen, montrent des signes nets de dégénérescence. Ces signes se traduisent par *l'état moniliforme* des spirochètes, qui apparaissent comme des chapelets de grains inégaux, réunis par des filaments minces, et aussi par la fragmentation des parasites. On ne rencontre pas de tréponèmes dans la *nouvelle cornée* et dans l'iris.

Il en résulte que pendant cette première phase *réactionnelle* de la période d'incubation, il n'y a ni organisation du fragment cornéen inoculé ni prolifération marquée des spirochètes. Ceux-ci semblent plutôt subir des modifications regressives,

1. Greef et Clausen, *Deutsche med. Woch.*, 1906, n° 36, p. 1454.
2. Hoffmann, *Dermatol. Zeitschr.*, vol. XIII, fasc. 8, p. 561.
3. Nous désignons par le terme *ancienne cornée*, le fragment de cornée inoculé au lapin neuf, et par le terme *nouvelle cornée*, la cornée du lapin en expérience.

dues très probablement au brusque changement de milieu et aussi au manque de matériaux nutritifs. L'absence de vaisseaux de nouvelle formation, dont l'apparition au sein de l'*ancienne cornée* est relativement tardive, rend défectueux l'apport des substances nutritives, qui n'arrivent au contact des parasites que par simple imbibition. Ce qui le prouve, c'est que les tréponèmes qui ont réussi à se fixer dans l'exsudation cellulo-fibrineuse de la chambre antérieure et qui sont, par conséquent, dans de meilleures conditions de vie, se montrent moins altérés que les parasites de l'*ancienne cornée*.

b) Deuxième phase d' « organisation ». — Les premiers signes d'organisation, apparents du 9e au 20e jour, se traduisent par une prolifération active des cellules propres de l'*ancienne cornée*, par la production de vaisseaux lymphatiques et sanguins néo-formés, et aussi par une multiplication marquée des éléments épithéliaux qui couvrent le fragment cornéen. Ces modifications apparaissent graduellement, chacune d'elle pouvant être plus ou moins précoce, suivant l'animal en expérience et suivant le moment où l'on pratique l'examen.

Le *revêtement épithélial*, siège d'une multiplication cellulaire assez vive, s'étend de plus en plus et finit par recouvrir entièrement les portions libres du fragment de l'*ancienne cornée*. Par places, il donne lieu à la formation de nodules circonscrits, qui peuvent être enclavés dans la cornée, ou attachés à l'iris. La figure 2 de la *Planche XI* montre deux de ces nodules épithéliaux *n*, représentés, à un plus fort grossissement, dans la figure 1 de la même planche (*e*) [1]. A une période plus avancée, la couche épithéliale, là où elle prend une disposition nettement nodulaire, se vacuolise au centre, par suite d'une fonte cellulaire et donne lieu à la formation de *kystes* remplis de détritus.

Les *éléments propres de la cornée* se multiplient et se déforment à la fois. Les cellules, pourvues d'un noyau ovalaire ou irrégulier, possédant un ou deux nucléoles, ont un aspect nettement *étoilé* et envoient des prolongements multiples. Ces éléments se touchent presque par leurs extrémités, se soudent même par place, pour donner lieu à des plasmodes, et renferment souvent des grains pigmentaires dans leur protoplasma

1. Lapin n° 60, sacrifié 10 jours après l'inoculation.

(*Pl. XIII*, fig. 2). Leur intervention directe dans le processus qui préside à la formation des vaisseaux lymphatiques et sanguins nous paraît certain. Ces *vaisseaux* naissent sous forme de fentes bordées de cellules à prolongements multiples; ces fentes se tapissent plus tard d'éléments endothéliaux et, après s'être mis en communication avec les foyers de prolifération vasculo-conjonctive péricornéenne, assurent la nutrition du fragment de l'*ancienne cornée.*

Tout autour de ce fragment, dans l'espace qui le sépare de la nouvelle cornée et aussi entre les plis des vestiges de la membrane de Descemet, il se forme un tissu constitué en grande partie par des cellules à aspect fibroblastique, pourvues de noyaux ovalaires, riches en suc, et d'un protoplasma fusiforme. Quelques leucocytes polynucléaires prennent part à la constitution de ce tissu, dont nous reproduisons l'aspect dans la figure 2 de la *Planche XII*. Dans d'autres cas, l'exsudation fibrineuse, décrite à propos de la première phase du processus persiste et s'enrichit en éléments mononucléaires (Lap. n° 34. sacrifié 9 jours après l'opération).

Distribution des tréponèmes. — Dans la grande majorité des cas, les tréponèmes ne réussissent pas à pulluler dans l'humeur aqueuse ou dans l'exsudation fibrineuse qui remplit une partie de la chambre antérieure. On les trouve isolés et assez rares entre les mailles de fibrine qui constituent cette exsudation, comme le montre la figure 1 de la *Planche XII* (Lapin 93, sacrifié 12 *jours* après l'inoculation). Toutefois, chez un animal (Lapin 34) examiné le neuvième jour, nous avons constaté une riche pullulation des parasites dans l'exsudat, surtout dans les zones les plus proches de la nouvelle cornée; il s'agissait d'une *vraie culture pure de tréponèmes dans la chambre antérieure.* Mais ce n'est là qu'une constatation exceptionnellement rare, la multiplication des spirochètes ayant comme siège habituel le tissu néoformé qui entoure l'*ancienne cornée*, les nouveaux vaisseaux de cette dernière, de même que les nodules épithéliaux décrits précédemment.

Dans le *tissu néoformé péricornéen*, les tréponèmes, comme le montre la figure 2 de la *Planche XII*, sont répandus en grand nombre entre les cellules fibroblastiques fusiformes et entrent en contact intime avec ces cellules. Un certain nombre d'entre

eux pénètrent dans le protoplasma des éléments cellulaires et envahissent aussi la membrane de Descemet de l'*ancienne cornée*.

Le tissu propre du fragment cornéen inoculé ne renferme qu'un nombre relativement restreint de parasites (fig. 1 de la *Planche XIV*). Par contre, ceux-ci abondent au niveau des *îlots épithéliaux* qui résultent de la prolifération de l'épithélium de recouvrement. La figure 1 de la *Planche XI* montre un foyer de pullulation des spirochètes, ayant comme siège les interstices qui séparent les cellules épithéliales partiellement vacuolisées (Lap. 60, sacrifié 10 jours après l'inoculation).

La prédilection des spirochètes pour les *vaisseaux* néoformés qui sillonnent l'*ancienne cornée* et pour les *cellules étoilées* qui longent ces vaisseaux, apparaît de la façon la plus nette vers le 20e jour de l'incubation. On constate à ce moment que les parasites forment un véritable feutrage autour des fentes lymphatiques et des capillaires sanguins. De plus, on révèle l'existence de rapports intimes entre les spirochètes et les cellules à prolongements multiples. Comme on peut le constater sur la figure 2 de la *Planche XIII*, *ces cellules sont entourées sur toute leur surface par de nombreux parasites, qui pénètrent également dans leur protoplasma*. Certains de ces parasites montrent une tendance à s'enrouler sur eux-mêmes, pour former des boucles plus ou moins irrégulières.

Rappelons que, pendant cette seconde phase du processus, la *nouvelle cornée* ne renferme pas encore de tréponèmes, ceux-ci n'ayant pas réussi à traverser la membrane de Descemet. Il est également impossible de déceler des spirochètes dans l'*iris* qui se montre, d'ailleurs, dépourvu d'altérations.

c) Troisième phase d'« envahissement ». — Au cours de cette 3e phase qui, suivant l'animal, débute du 15e au 20e jour, les tréponèmes quittent l'ancienne cornée pour se répandre et proliférer dans la cornée du lapin en expérience. Cet envahissement s'opère au niveau de la membrane de Descemet, où l'on décèle des parasites en train de la traverser ; il a lieu également au point précis où se forme la soudure entre l'*ancienne* et la *nouvelle cornée* (fig. 1 de la *Planche XIII* ; Lap. 84, 32 jours après l'inoculation). Le fait le plus digne de remarque est la *pullulation active des spirochètes dans la cornée du lapin en expérience, à un moment où ni macroscopiquement, ni même à l'examen microsco-*

pique on ne découvre des altérations bien nettes. Nous avons décelé cette prolifération parfois dès le 19e jour, le plus souvent à partir du 22e jour de l'incubation. La figure 2 de la *Planche XIV*, montre que chez le lapin 32, mort 19 jours après l'inoculation, la nouvelle cornée se montre par places, surtout au voisinage de la membrane de Descemet, farcie de tréponèmes, la plupart libres et disposés parallèlement aux lamelles. Or, *à ce moment, la cornée est absolument transparente et les tissus se montrent dépourvus de lésions microscopiques*, sauf peut-être une légère infiltration leucocytaire.

Plus tard, lorsqu'on constate l'opacité caractéristique de la kératite spécifique, la cornée devient très riche en spirochètes et montre les lésions décrites par *Bertarelli* et les auteurs qui ont confirmé les recherches de ce savant. La période d'incubation étant alors achevée, ces lésions n'offrent pour nous qu'un intérêt relatif; aussi nous n'insisterons pas sur ce point. Rappelons seulement que, d'après nos constatations, *la kératite, une fois guérie, peut récidiver*, comme nous l'avons démontré dans une note publiée antérieurement [1].

Il s'agit d'un lapin dont les deux cornées furent scarifiées le 30 mai 1907 avec du suc provenant d'un chancre humain. Le 3 juillet on observa une kératite droite; l'œil fut énucléé et les coupes montrèrent de nombreux parasites dans la cornée. Vers le 5 juillet, on remarqua des signes nets de kératite à l'œil gauche, qui disparurent au bout de quelques jours. L'œil paraissait sain, lorsque le 27 octobre, c'est-à-dire *cent treize jours* après la première kératite, la cornée se troubla de nouveau au niveau du limbe. Les coupes montrèrent des lésions constituées par une accumulation en foyer de leucocytes mononucléaires et de très nombreux spirochètes, surtout accumulés au voisinage de la membrane de Descemet (Fig. 3, *Planche XIV*).

Ce fait montre que le *virus spécifique peut se conserver longtemps au point d'inoculation, sans engendrer la moindre réaction locale visible à l'œil nu.*

***

Il résulte de ces constatations que la pullulation des tréponèmes, nulle pendant les premiers jours de l'incubation, ne devient manifeste qu'à partir du moment où commence l'organisation du fragment cornéen inoculé. Dès que les éléments

1. Levaditi et Yamanouchi, *C. R. de la Société de Biologie*, 1908, vol. LXIV, p. 408.

cellulaires propres de ce fragment et ceux de son revêtement épithélial, entrent en prolifération, surtout dès qu'il y a néoformation vasculaire et production d'un tissu inflammatoire péricornéen, les parasites se multiplient abondamment. Il nous semble que *cette lenteur de la pullulation microbienne, au début, et l'activité de la multiplication parasitaire que l'on remarque plus tard, trouvent leur explication dans les conditions de nutrition où se trouvent les spirochètes par suite du brusque changement de milieu.* Tant que l'apport de matériaux nutritifs ne se fait que par simple imbibition, on ne révèle aucun enrichissement des tissus en tréponèmes et on observe, au contraire, la dégénérescence partielle des microorganismes inoculés. A partir du moment où l'organisation débute, les spirochètes se greffent sur les éléments cellulaires néoformés, lesquels, grâce à leur activité propre, assurent aux parasites les matériaux nutritifs dont ils ont besoin. La pénétration des tréponèmes dans le protoplasma de ces éléments et leur préférence pour les vaisseaux lymphatiques et sanguins, peuvent s'interpréter, d'ailleurs, dans le même sens.

La longueur de la période d'incubation s'explique donc par les difficultés que rencontrent les tréponèmes à s'acclimater à de nouvelles conditions de vie et de nutrition. Très délicat et doué d'un pouvoir assimilatif relativement faible, le microbe de la syphilis semble incapable de s'approprier les substances alimentaires qui circulent dans l'organisme, sans l'intervention des cellules qui se chargent d'élaborer ces substances à son profit. Ceci explique d'une part, la durée de l'incubation et d'autre part, l'insuccès des tentatives de culture *in vitro*; ceci est aussi d'accord avec les constatations de Metchnikoff et Roux ayant trait à l'influence exercée sur la durée de cette incubation, par le passage fréquent du virus syphilitique sur le *Macacus rhesus* [1]. Ces auteurs ont vu, en effet, qu'à la suite de ce passage, par conséquent dans des conditions ayant déterminé l'accoutumance du virus spécifique aux matériaux nutritifs propres à cette variété de singe, l'incubation est tombée de 19 jours à 7 jours.

Quoi qu'il en soit, *la constatation de tréponèmes typiques en voie de développement à chaque instant de l'incubation, montre bien*

1. Metchnikoff et Roux, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1906, vol. XX, p. 785.

que celle-ci ne correspond pas à un cycle dans l'évolution du spirochète pâle.

II

RECHERCHES SUR LE SYPHILOME EXPÉRIMENTAL DU CHIMPANZÉ ET DES SIMIENS INFÉRIEURS

Nos expériences faites sur quatre *macaques Javanais et un chimpanzé*, ont consisté à introduire dans le derme de l'arcade sourcilière, des petits fragments de cornée de lapins atteints de kératite et riche en tréponèmes, et à examiner l'évolution des lésions au cours de la période d'incubation. On sait, depuis les constatations de *Bertarelli* [1], que l'inoculation du virus syphilitique ayant fait plusieurs passages sur le lapin, provoque, chez les simiens inférieurs, l'apparition d'un syphilome primaire au bout d'une incubation assez longue. Nous avons eu soin de déposer les fragments cornéens dans des petites poches sous-épidermiques pratiquées à l'aide d'un couteau triangulaire, et à extirper les points inoculés 7, 10, 17 et 32 jours après.

Sept jours après l'opération (Macaque N° 48), on constate, au niveau du derme et de la région superficielle du tissu sous-cutané, un nodule formé en grande partie par le fragment de cornée inoculé. On distingue encore les restes partiellement mortifiés de ce fragment, ainsi que les vestiges de la membrane de Descemet. A un fort grossissement, on constate que le tissu cornéen est infiltré par un grand nombre de leucocytes mono et polynucléaires et qu'il est traversé par de rares vaisseaux néoformés.

Tout autour du fragment existe une accumulation de lymphocytes à disposition plutôt diffuse. Toutefois, ça et là on distingue des vaisseaux dont l'endothélium paraît gonflé et qui sont entourés de nombreuses cellules à noyau unique. *Les altérations vasculaires et péri-vasculaires à caractère spécifique apparaissent donc dans le derme dès le septième jour.* Quant aux tréponèmes, ils sont relativement peu nombreux. On les décèle surtout au niveau d'un îlot épithélial sis au voisinage immédiat du nodule cornéen (v. fig. 1).

Dix-sept jours après l'introduction du virus (Macaque n° 9; arcade droite), on révèle la présence d'un nodule cornéen analogue à celui qui vient d'être décrit, situé dans la zone toute surperficielle du tissu sous-cutané [2]. La vascularisation est ici plus accusée et il en est de même des infiltrations péri-vasculaires. Toutefois, l'épiderme est encore indemne et d'ailleurs, macroscopiquement, on ne constatait aucune lésion pouvant indiquer un début

1. Bertarelli, *Centralbl. für Bakteriolog.*, 1908, vol. XLVI, p. 51.
2. Ce nodule contient un îlot épithélial pourvu d'une cavité kystique contenant des détritus cellulaires.

d'ulcération chancreuse ; on ne distinguait en effet, qu'un léger soulèvement de la peau correspondant au fragment de cornée inoculé.

Les tréponèmes, assez nombreux, sont disposés surtout autour des vais-



Fig. 1. Ilot épithélial et tréponèmes au niveau d'un nodule extirpé *sept jours* après l'inoculation (Mac. Javanais).

seaux à parroi infiltrée qui sillonnent le fragment cornéen, ou qui l'entourent (v. fig. 2).

Trente-deux jours après l'introduction du virus, les lésions ont atteint leur maximum d'intensité ; d'ailleurs, macroscopiquement, on constatait déjà une érosion superficielle au point inoculé, ce qui indiquait la fin de la période d'incubation. Au microscope on constate que, par places, l'épiderme est ulcéré et que tout le derme et une partie du tissu sous-cutané est occupé par une infiltration cellulaire des plus marquées. Cette infiltration intéresse les restes de la cornée inoculée, dont on distingue encore la membrane de Descemet, et aussi les vaisseaux sanguins. Les éléments cellulaires qui y prennent part sont de grosses cellules ayant l'aspect des fibroblastes, des lymphocytes et aussi des Plasmazellen. Quant aux tréponèmes, ils sont répandus en

très grand nombre, de préférence autour des vaisseaux atteints d'endo et de péri-artérite spécifique. On le retrouve jusque dans l'épiderme, surtout dans ses parties errodées (v. fig. 3).

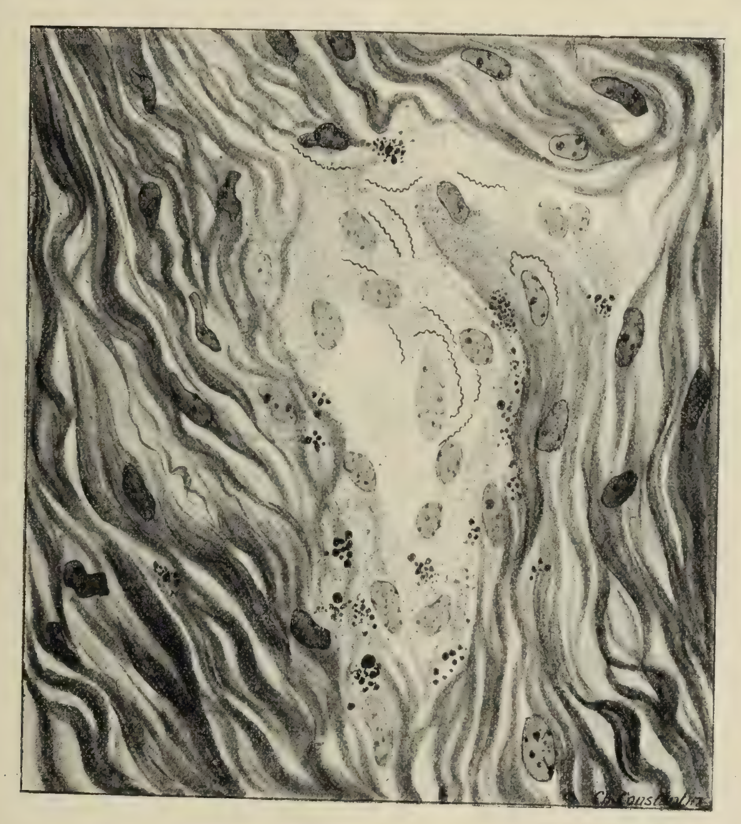


Fig. 2. Tréponèmes dans la paroi d'un vaisseau, 17 *jours* après l'inoculation du virus (Mac. Javanais).

Il en résulte qu'à chaque instant de l'incubation on peut retrouver, chez les simiens inférieurs, des tréponèmes au point d'introduction du virus, et des lésions microscopiques qui sont d'autant plus accusées qu'on se raproche du moment où débute le syphilome primaire. Cette constatation est confirmée par nos recherches faites sur le chimpanzé, recherches dont voici les détails[1] :

Un chimpanzé est inoculé au niveau des arcades sourcilières avec des fragments de cornée de lapin riche en tréponèmes (poches sous-épidermi-

1. Levaditi et Yamanouchi, *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1908, vol. LXIV, p. 313.

ques). On dépose en même temps des morceaux de la même cornée dans la chambre antérieure de plusieurs lapins. Un de ces lapins meurt 19 jours après l'opération, et l'examen microscopique montre la présence de très nombreux spirochètes dans la cornée, malgré l'absence de lésions visibles de kératite (*c. f.* chap. I). Un second lapin présente une kératite intense 33 jours après l'inoculation. Chez le chimpanzé, on ne constata aucune altération locale, ni rougeur, ni induration nette, ni ulcération. Il mourut 38 jours après l'introduction du virus et l'examen histologique permit de faire les constatations suivantes :

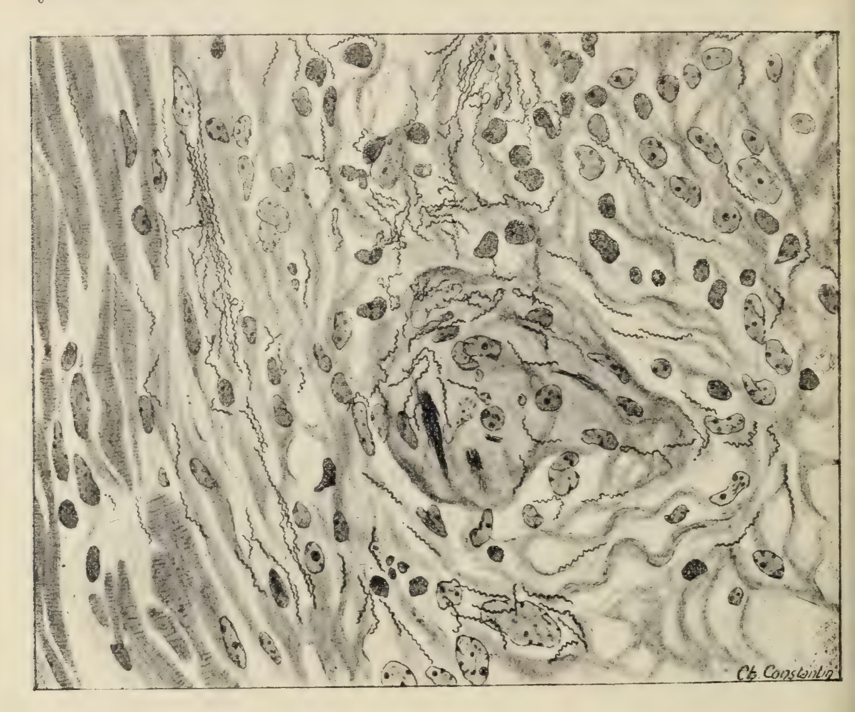


Fig. 3. Tréponèmes dans un foyer d'infiltration cutanée, 32 *jours* après l'inoculation du virus (Mac. Javanais).

L'épiderme est absolument intact; il ne montre ni infiltration leucocytaire, ni solution de continuité. Dans la profondeur de la peau, à la limite entre le tissu cellulaire sous-cutané et les parties profondes du derme, il existe un nodule assez bien circonscrit, correspondant au fragment de cornée inoculé. Ce nodule est constitué par un tissu nettement fibreux, formé par des bandes conjonctives, dans l'interstice desquelles on décèle de nombreux éléments cellulaires. Ce sont, en grande partie, des cellules mononucléaires, lymphocytes et gros macrophages, fibroblastes et Plasmazellen. Çà et là on distingue des vaisseaux entourés de lymphocytes et, vers la périphérie du nodule, on découvre quelques *cellules géantes* atypiques, à protoplasma

clair, à noyaux multiples. Autour de ce nodule, les vaisseaux sont entourés d'une gaine cellulaire, riche en éléments mononucléaires (lymphocytes et quelques Plasmazellen). Ces lésions péri-vasculaires s'atténuent au fur et à mesure que l'on se rapproche des parties superficielles du derme et des papilles. A ce niveau, les vaisseaux papillaires, sans être trop altérés, offrent néanmoins des signes de péri-vascularité assez nets.

Les tréponèmes existent en nombre considérable au niveau du nodule décrit plus haut. Ils sont pour la plupart libres, répandus le long des fibres conjonctives ou accumulés autour des éléments cellulaires. Cependant, un certain nombre d'entre eux sont inclus dans le protoplasma des mononucléaires, et aussi dans celui des cellules géantes [1]. A côté de parasites typiques, on en rencontre d'autres qui sont enroulés sur eux-mêmes pour former des boucles irrégulières. Plus on s'éloigne du nodule, plus les spirochètes deviennent rares. On les constate surtout autour des vaisseaux dermiques et papillaires; on les retrouve aussi disséminés dans le tissu conjonctif du derme. Nous en avons décelé également au niveau des glandes sébacées et dans les parties profondes d'un follicule pileux.

Ces recherches, faites sur le chimpanzé et les simiens inférieurs (macaques Javanais), complètent celles que nous avons entreprises sur le lapin. Elles montrent que la pullulation des tréponèmes est intimemment liée à l'organisation du fragment de cornée introduit dans le derme, ou entre le derme et le tissu sous-cutané. L'apparition de vaisseaux de nouvelle formation s'accompagne d'une multiplication active des parasites, lesquels s'accumulent de préférence au niveau des lésions péri-vasculaires. Le processus spécifique progresse de la profondeur vers la surface, en suivant les canalicules sanguins. Le début de l'ulcération chancreuse coïncide avec la localisation des spirochètes dans l'épiderme et les papilles, et avec l'apparition des lésions épidermiques et papillaires qui en sont la conséquence.

On peut donc conclure *qu'avant toute apparition de lésions macroscopiques, il existe déjà, au point d'introduction du virus, des altérations spécifiques intéressant les vaisseaux, altérations provoquées par la pullulation du tréponème*. Au début de la période d'incubation, les lésions histologiques sont peu accusées, sinon nulles, la multiplication des spirochètes s'opère lentement et avec difficulté. En effet, l'absence de vascularisation d'une part, le changemeut de milieu d'autre part, font obstacle à la pullulation rapide de ces parasites. Mais, dès que les conditions de

1. Hoffmann (*Congrès d'Hygiène de Berlin*, 1907) a déjà vu des tréponèmes inclus dans les cellules géantes, au niveau du syphilome prmaire chez l'homme.

nutrition s'améliorent, par suite de la formation de nouveaux vaisseaux qui assurent l'apport des matériaux nutritifs, la segmentation des spirochètes s'effectue rapidement et les tissus s'enrichissent de plus en plus en microorganismes spiralés. Parallèlement à cet enrichissement, apparaissent les lésions syphilitiques microscopiques, qui peuvent atteindre un certain degré de développement, sans que l'on puisse distinguer, macroscopiquement, des modifications appréciables au point d'introduction du virus. *Le syphilome microscopique précède donc de beaucoup la lésion initiale du chancre visible à l'œil nu*[1].

CONCLUSIONS

La période d'incubation qui précède l'éclosion du syphilome primaire du singe et la kératite spécifique du lapin, n'est pas due à l'existence d'un cycle évolutif chez le Treponema pallidum. *Elle correspond au développement lent, mais progressif des lésions histologiques provoquées par la pullulation du microbe de la vérole. Cette pullulation est peu accusée au début, par suite d'une assimilation défectueuse causée d'une part par le changement du milieu, et d'autre part par les conditions qui président à l'apport des matériaux nutritifs. Mais, dès que les vaisseaux et les éléments cellulaires néoformés assurent au tréponème les principes nutritifs dont il a besoin, la multiplication du parasite devient active et met fin à la période d'incubation.*

1. Cette conclusion est conforme à l'opinion antérieurement avancée par Audry. (*Ann. de Dermatolog. et de Syphiligr.*, 1906, p. 218.)

LÉGENDE DES PLANCHES XI, XII, XIII, XIV

PLANCHE XI. *Fig. 1. Ancienne cornée du lapin n° 60, sacrifié 10 jours après l'inoculation.* *c*, tissu cornéen; *e*, nodule épithélial; *r*, épithéliums vacuolisés; *s*, tréponème.

Fig 2. Même coupe à un petit grossissement. *i*, iris; *c*, nouvelle cornée; *m*, ancienne cornée; *n*, nodules épithéliaux; *t*, tissu d'organisation.

PLANCHE XII. *Fig. 1. Exsudat entourant l'ancienne cornée du lapin n° 93, sacrifié 12 jours après l'inoculation du virus.* *t*, tissu cornéen; *e*, exsudat; *s*, tréponème.

Fig. 2. Tissu d'organisation péri-cornéen, chez le lapin n° 79, sacrifié 15 jours après l'inoculation du virus. *d*, membrane de Descemet de l'ancienne cornée; *t*, tissu d'organisation; *s*, tréponème.

PLANCHE XIII. *Fig. 1. Point de contact entre la nouvelle cornée et le fragment de cornée inoculé, chez le lapin n° 84, sacrifié 32 jours après l'opération.* *c*, nouvelle cornée; *d*, membrane de Descemet de la nouvelle cornée; *e*, épithélium de l'ancienne cornée; *t*, tissu de réaction; *a*, vestige de la membrane de Descemet de l'ancienne cornée; *p*, pigment.

Fig, 2. Cellules étoilées dans l'ancienne cornée, chez le lapin n° 85, sacrifié 22 jours après l'inoculation. *e*, tissu cornéen; *c,c'*, cellules étoilées; *s*, tréponèmes dans le protoplasma d'une cellule à prolongements multiples.

PLANCHE XIV. *Fig. 1. Ancienne cornée du lapin n° 60, sacrifié 10 jours après l'inoculation du virus.* *c*, tissu cornéen; *s*, tréponème.

Fig. 2. Nouvelle cornée du lapin n° 32, sacrifié 19 jours après l'inoculation. *c*, tissu cornéen; *s*, tréponème.

Fig. 3. Cornée du lapin n° 57 : kératite récidivante. *d*, membrane de Descemet; *c*, tissu cornéen; *n*, noyau de leucocyte mononucléaire; *s*, tréponème.

Glycolyse, Hyperglycémie, Glycosurie et Diabète

Par le Dr J. de Meyer

Assistant à l'Institut de physiologie (Ins. Solvay), Bruxelles.

(Travail du laboratoire de M. Delezenne à l'Institut Pasteur.)

Si on parcourt la très considérable littérature qui existe déjà au sujet de la pathogénie du diabète, on est frappé du grand nombre d'interprétations, d'hypothèses qui ont été formulées pour expliquer l'origine de cette affection. On se trouve là en présence d'un dédale de théories souvent obscures et presque toujours contradictoires. Certains auteurs considèrent en effet le diabète comme une maladie générale de la nutrition [Pettenkofer et Voit (1), Ebstein (2), Bouchard (3), Jaccoud (4), Seegen (5), Naunyn (6), Lafon (7) etc. D'autres y ont vu un trouble des fonctions hépatiques (Cl. Bernard (8), Pavy (9), Schiff (10), Lafon (7), Gilbert et Weil (66), Gilbert et Lereboullet (67), Bock et Hoffmann (11), Seegen (5).] Une troisième catégorie d'auteurs affirme que le diabète est souvent une affection nerveuse déterminée par un traumatisme intense, moral ou physique. (Cl. Bernard (8), Schiff (10), Eckard (12), Cyon et Aladoff (13), Kulz (14), Klebs et Munk (15), Arthaud et Butte (16), Thiroloix (17). [Voyez aussi Hirschfeld (68), Spitzer (69), Lenhoff (70), Lorand (71)].

Mais, sous l'mpulsion de travaux nombreux et précis accumulés depuis quelques années, un grand nombre d'expérimentateurs, admettent que le diabète est dû le plus souvent, sinon toujours, à une altération des fonctions pancréatiques.

Comme il existe cependant dans le sang et la lymphe, un ferment capable de détruire activement le glucose, — le ferment glycolytique, — on a admis aussi que le diabète pourrait provenir d'une diminution d'intensité des phénomènes de la glycolyse (Lépine).

Un grand nombre de faits, dont on n'entrevoit pas bien l'importance, compliquent cependant encore la question. Ainsi il est certain qu'un élément rénal existe dans le diabète. [Lépine

(18), KOLISCH et BUBER (19), MEHRING (20), PRAUSNITZ (21), HEDON (22), MINKOWSKI (23), CREMER (24)]. Les cliniciens décrivent aussi un grand nombre de cas de glycosuries non diabétiques, cela chez des arthritiques, des obèses [VON NOORDEN (65)], chez des sujets atteints de troubles digestifs, chez des malades atteints d'affections cérébrales, médullaires, nerveuses, chez des femmes en période puerpérale. [Cf. G. ROQUE (25)]. On observe en outre des glycosuries toxiques [LÉO (64)] et certains symptômes caractéristiques du diabète existent aussi parmi les manifestations de l'hyperthyroïdisme. [Cf. DE MEYER (26, pg. 72).]

Ajoutons qu'un certain nombre de physiologistes américains soutiennent que les électrolytes ne seraient pas étrangers à la production de la glycosurie : des troubles dans la quantité relative d'ions Na et Ca dissous dans nos humeurs, pourraient amener une abondante excrétion de glucose. [FISCHER (27), BROWN (28), UNDERHILL et CLOSSON (29), HUGH MC. GUIGAN AND CL. BROOKS (30).] [Voyez aussi LILIENFELD (72) et GANS (73)].

Telles sont les théories en présence et les principaux ordres de faits dignes de retenir l'attention. On ne peut nier cependant que la théorie pancréatique du diabète ne soit établie sur des bases expérimentales irréfutables : les résultats de l'ablation du pancréas sont trop connus pour que nous les exposions ici ; signalons qu'on est même parvenu par certaines méthodes de dépancréatisation à provoquer chez le chien un diabète de plusieurs mois, déjà très semblable au diabète de l'homme. [SANDMEYER (31) PFLUGER (32).]

Mais par quel mécanisme l'ablation du pancréas produit-elle la glycosurie, l'hyperglycémie, l'amaigrissement, le trouble de la fonction glycogénique du foie, l'intoxication acide, l'acétonurie et la cachexie finale? Personne n'en sait rien au juste, et il existe encore une fois sur le mécanisme du diabète pancréatique, toute une série de théories et d'hypothèses qui ne se concilient que de très loin.

Il importe tout d'abord d'écarter l'opinion ancienne suivant laquelle une quantité appréciable de glucose se détruirait dans le parenchyme pancréatique [PAL (33), UMBER (34), GLEY (35), ARTHAUD et BUTTE (36), MARTZ (37).] De même personne ne soutient

plus aujourd'hui que le pancréas sécréterait un ferment glycolytique. [Cf. discussion dans DE MEYER (26).]

Certains auteurs ont admis qu'il se produirait dans l'organisme une substance diabétogène, substance rendue inactive par la sécrétion interne du pancréas : le diabète dit pancréatique proviendrait de l'accumulation de cette substance dans l'organisme. [HEDON (38), LÉPINE (39), LÉPINE et BOULUD (40), LÉO (41).] Il est très difficile de se prononcer au sujet de cette dernière théorie, parce que les expériences sont trop peu nombreuses et faites dans des conditions trop différentes : du reste, les méthodes d'obtention des substances diabétogènes nous paraissent entachées de sérieuses causes d'erreurs. En outre, il semble inadmissible que l'organisme élabore, à l'état normal, une sécrétion interne toxique, voire même mortelle, ayant comme seule fonction d'être aussitôt neutralisée et détruite par une autre sécrétion.

Certains auteurs expliquent maintenant le diabète pancréatique d'une façon toute différente. Pour eux la sécrétion interne du pancréas porte son action sur les centres nerveux d'où partent les nerfs du foie — sur le centre excito-sécréteur du foie. La substance pancréatique aurait comme fonction de paralyser ce centre et d'empêcher ainsi le foie de déverser une trop grande quantité de glucose dans la circulation. [CHAUVEAU et KAUFMANN (42).] Nous avons exposé déjà (26 pg. 61) toutes les objections que soulèvent les expériences des physiologistes français ; ces objections rendent, à notre avis, leurs conclusions inacceptables.

Notons ici que, tout récemment, O. LOEWY (52) a soutenu que le pancréas sécréterait une substance qui agirait sur certains nerfs inhibitoires du sympathique ; cette inhibition empêcherait l'action excitante d'autres nerfs sympathiques capables de provoquer l'hyperglycémie.

Un certain nombre d'expérimentateurs ont soutenu aussi, — et apparemment avec plus de raison — que le pancréas agirait directement sur les cellules hépatiques pour modérer la transformation du glycogène en glucose, ou accélérer la transformation du glucose en glycogène (KAUFMANN (43), MONTUORI (44), SILVESTRI (45), MARTZ (37), THIROLOIX (46), HIRSCH (47).] [Voyez aussi LAFON (7)]. Il existe très peu d'expériences qui démontrent cette hypothèse positivement, à part peut-être

celle de Martz qui a consisté à soumettre le foie à la circulation artificielle et à étudier l'état des réserves hydrocarbonnées après le passage du sang ayant — ou non — traversé le pancréas. L'auteur vit que le foie recevant du sang ayant traversé le pancréas, désassimile moins vite son glycogène que le foie qui reçoit du sang défibriné ordinaire. Mais il est impossible de se rendre compte par le travail de l'auteur s'il s'agit en réalité ici d'une destruction moins rapide de glycogène, ou d'une formation de ce polysaccharide. [Cf. Kaufmann (43 c.)].

D'un autre côté Pfluger (48) a émis dans ces derniers temps une théorie absolument originale du diabète pancréatique, théorie qui a certains points communs avec celle de Chauveau et Kaufmann. Se basant sur des expériences faites exclusivement sur la grenouille, l'auteur rejette l'importance de la sécrétion interne du pancréas et admet que le pancréas agit sur la glycémie par l'intermédiaire du sytème nerveux. Il y aurait « ein antidiabetisches nervöses Centralorgan » dans le duodénum, organe central qui enverrait au pancréas des nerfs antidiabétiques, dont la lésion déterminerait immanquablement la glycosurie. Il y aurait ainsi une synergie fonctionnelle entre le duodénum et le pancréas, synergie telle que l'ablation du duodénum aurait — chez la grenouille — les mêmes effets que la dépancréatisation. [Cf. aussi expér. d'énervation de Kaufmann (43 c.)].

Notons que l'ablation du duodénum chez le chien n'a pas donné les mêmes résultats. [Lauwens (49), Ehrmann (50). Voyez aussi Pfluger (51 et 77) Minkowski (78)].

Quant au diabète d'origine surrénale, nous estimons, contrairement à l'avis de Carnot (53) que son existence est encore à démontrer. [Voyez aussi De Meyer (26 p.31-32)].

Beaucoup d'auteurs (Stoklasa, Cohnheim, Spitzer etc, etc., ont admis aussi que tous les tissus, tous les organes sécréteraient du ferment glycolytique : certains d'entre ces auteurs ont affirmé plus ou moins explicitement que la diminution du pouvoir glycolytique des organes pourrait être un des éléments pathogéniques du diabète. Nous avons vu dans notre mémoire (26 p. 78) ce qu'il fallait penser de ces expériences. [Cf. aussi Portier (81)].

Quant au fait avancé par Feinschmidt (79) et par Jacoby (80) suivant lequel un extrait de foie de diabétique obtenu par la presse de Büchner ne posséderait pas de propriétés glycolytiques,

nous ne pouvons que réserver notre opinion à son sujet : nous pensons en effet que trop de causes d'erreurs entachent l'exactitude de cette expérience. [Cf. aussi KAUFMANN (82).

Nous pouvons aussi noter à cette place que toutes les expériences d'opothérapie pancréatique ont échoué, et qu'aucun physiologiste n'est encore parvenu à maintenir un animal dépancréaté en vie par l'administration ou l'injection d'extraits de pancréas.

Telles sont — rapidement esquissées — les principales des théories qui se proposent d'expliquer l'étiologie et la pathogénie du diabète. Il serait prématuré de les discuter : nous y reviendrons après avoir exposé les résultats de nos expériences personnelles. Il est, au milieu de tant de divergences, un point sur lequel tous les auteurs s'accordent : le pancréas n'agirait pas *directement* sur la glycémie. Il lui faut un ou plusieurs intermédiaires. C'est dans la définition de la nature et du rôle de ces intermédiaires que la discusion s'égare actuellement.

Nous pensons pouvoir affirmer que l'un d'eux est la fonction glycolytique des leucocytes. LÉPINE arriva aussi à cette conception par toute une série de déductions; il put démontrer même que l'excitation des nerfs accompagnant l'artère pancréatico-duodénale augmentait le pouvoir glycolytique du sang (54). Nous avons prouvé (26) beaucoup plus directement les rapports des fonctions glycolytiques et pancréatiques, en faisant agir *in vitro* des extraits pancréatiques sur du sang. Nous avons vu que des extraits pancréatiques même portés à 115° — extraits rendus isotoniques avec le sérum sanguin — excitaient les propriétés glycolytiques du sang. Ces extraits agissent non seulement sur les éléments figurés, mais même sur des substances sécrétées par eux : en effet, ils excitent encore la glycolyse de plasmas sanguins entièrement débarrassés par centrifugation de leurs globules. Nous avons admis, à la suite de nos expériences, que l'extrait pancréatique pourrait jouer un rôle d'ambocepteur vis-à-vis du ferment glycolytique des leucocytes, ferment qui ne serait sécrété qu'à l'état de proferment [1].

1. LÉPINE (74 p. 508) dit ne pas être parvenu à voir que l'extrait pancréatique activait la glycolyse — sinon dans un seul cas. Nous ne pouvons nous expliquer les raisons de l'insuccès de son expérience, car nous avons eu l'occasion de la revérifier souvent dans le cours de ces dernières années. Ainsi, par exemple,

Cette façon d'envisager les choses expliquerait ce qui se passe lors de la dépancréatisation : le sang s'enrichirait en proferment glycolytique, celui-ci ne pourrait se transformer en ferment actif à cause de l'absence de la sécrétion interne du pancréas. Il y aurait arrêt de la glycolyse dans le sang, dans la lymphe, partout où les liquides circulants ont coutume de déposer du ferment glycolytique. Il se produirait ainsi une accumulation de glucose, la glycosurie en serait la suite, ainsi que tous les symtômes secondaires dus à la trop grande richesse de notre organisme en hydrates de carbone.

Mais nos expériences ne peuvent expliquer cependant ce fait paradoxal que du sang d'animaux diabétiques présente encore *in vitro* un certain pouvoir glycolytique. S'agit-il ici d'un pouvoir glycolytique normal ou d'un pouvoir en réalité faible dans le sang circulant, mais intensifié artificiellement par la défibrination et par le séjour en dehors des vaisseaux : c'est là une question à laquelle il est très difficile de répondre d'une manière satisfaisante.

Nous verrons dans les pages suivantes, que certains auteurs s'accordent à affirmer que si ce pouvoir glycolytique n'est pas détruit, il n'en a pas moins subi une altération manifeste. Et nous pouvons faire remarquer à ce propos que l'appréciation et la mesure absolue de l'intensité de la glycolyse est une chose moins facile qu'on ne pourrait se le figurer à première vue. [Voyez LÉPINE (55).] La difficulté résulte notamment de la présence dans le sang du « sucre virtuel ».

On concevra donc aisément que les avis soient restés partagés au sujet de l'importance du rôle joué par la fonction glycolytique dans la régularisation de l'équilibre glycémique. Le présent travail a précisément pour but de combler cette lacune. Nous nous sommes proposé — sur le bienveillant conseil de

dans une expérience faite au moyen d'exsudat aseptique et d'extrait pancréatique, porté seulement à 70° et filtré sur bougie Berkfeld, nous avons obtenu en 6 heures de temps une glycolyse de 32,85 % en présence d'extrait pancréatique, alors qu'en présence du même nombre de centimètres cubes de sérum physiologique, elle n'était que de 18,65 %. Nous ferons remarquer du reste que LEPINE ne dit pas, dans son article, si l'isotonie de ses extraits a été bien établie, si ses glycolyses en présence d'extraits de pancréas ont été comparées à des glycolyses faites en présence d'un égal nombre de centimètres cubes de solution physiologique, si ses extraits pancréatiques ont été soigneusement débarrassés des débris cellulaires; toutes choses qui peuvent facilement vicier les résultats.

M. Delezenne — de rechercher quel était le rôle joué par la glycolyse dans l'organisme même. Le seul moyen que nous eussions à notre disposition était de diminuer ou de supprimer *in vivo* la fonction glycolytique en préparant un antiferment glycolytique. Les expériences consignées dans le présent travail prouveront que nous avons atteint notre but.

***

BIBLIOGRAPHIE SPÉCIALE

Avant d'exposer les résultats de nos expériences, nous rassemblerons ici les données bibliographiques concernant spécialement les rapports de la fonction glycolytique avec l'hyperglycémie, la glycosurie et le diabète. Remarquons, tout d'abord, que l'étude de ces rapports a été plus ardue qu'on ne pouvait s'y attendre à première vue. En effet, dans le sang des diabétiques deux facteurs principaux interviennent pour influencer les phénomènes glycolytiques : le premier est l'augmentation du sang en sucre, le second est l'influence du diabète lui-même sur le ferment sanguin. Et un troisième facteur vient aussi dans certains cas compliquer la question : c'est le sucre virtuel. Son étude est à peine ébauchée dans le sang normal, et on ne connaît presque rien du rôle de cette réserve hydrocarbonnée dans le diabète. [Lépine (55)].

En outre, la théorie de l'action des ferments ne peut avoir dans cette question la moindre utilité, car on ne doit pas perdre de vue que le ferment glycolytique, tel qu'il se trouve dans le sang, n'est en rien comparable à une solution de diastase. Il est, au contraire, sécrété au fur et à mesure des besoins par les leucocytes, et l'état diabétique pourra influencer à la fois la sécrétion de la zymase et le mode d'action de celle-ci sur le sucre. Les variations de la glycolyse dans le diabète ne pourront par conséquent être étudiées que par voie expérimentale (Cf. Duclaux, 56 pg. 533.)

Il importe donc de bien poser le problème. Tout d'abord la perte de sucre subie par le sang doit elle-être calculée *en perte absolue* ou *en perte relative?*

Il saute aux yeux que les glycolyses ne peuvent être appréciées

que par la perte *absolue*, puisque les sangs diabétiques, étant toujours hyperglycémiques, auront par le fait même — et dans tous les cas — une perte relative en sucre forcément plus petite. Donc, quand un certain nombre de centimètres cubes de sang diabétique perdront moins de sucre dans le même temps, que le même nombre de centimètres cubes de sang normal, on pourra affirmer que la glycolyse a été diminuée.

Mais il pourrait arriver qu'un sang diabétique ait une perte relative de glucose plus petite qu'un sang normal, tout en ayant une perte absolue plus grande. Sera-t-il, dès lors, forcément plus glycolytique que le sang normal?

Pour pouvoir répondre à cette question, il importe de connaître les variations d'intensité de la glycolyse dans du sang normal enrichi en glucose. Si cet enrichissement n'influe pas sur la glycolyse, nous pourrons conclure que le sang diabétique auquel nous venons de faire allusion, est vraiment plus glycolytique que du sang normal. Mais si l'expérience démontre au contraire que l'addition de glucose au sang fait augmenter la perte en sucre (celle-ci étant, bien entendu, calculée en chiffres absolus), alors le sang diabétique devra — pour être plus glycolytique que du sang normal — détruire en chiffres absolus plus de sucre que du sang normal enrichi préalablement d'autant de glucose que le sang diabétique lui-même. Or c'est ce que l'expérience ne vérifie pas, car certains auteurs démontrent précisément que la quantité de glucose détruite, lors de la glycolyse du sang normal, augmente avec l'enrichissement de ce sang en sucre. Cela ressort nettement d'un travail de Lépine et Metroz (83).

Ces auteurs vérifient en effet que la perte absolue du sang en sucre augmente avec l'addition de glucose. En calculant les chiffres publiés dans leur travail, on voit que chaque fois qu'un sang s'enrichit de 1 gramme de glucose par litre, la glycolyse devient approximativement 1,8 fois plus intense. Or, comme la glycolyse a été trouvée dans les sangs diabétiques (donc hyperglycémiques) sensiblement égale à celle des sangs normaux, il faut en conclure qu'elle a été manifestement réduite.

Beaucoup d'auteurs [Duclaux (56), Sansoni (84), Spitzer (85), Kraus (86), Minkowski (23), Seegen (87), Pavy (88), Gaglio (89), Colenbrander (90), Hédon (38)] ont combattu cette opinion.

Leurs expériences ne sont cependant pas à l'abri de toute critique. Ainsi Hédon publie (38, p. 141) une série de chiffres d'où il ressort à première vue, que du sang enrichi en sucre ne perd pas plus de glucose que du sang normal. Mais les expériences de l'auteur sont en fait peu comparables entre elles, les glycolyses ayant été effectuées à des températures variant entre 39°,5 et 45° et pendant des temps inégaux (1 à 4 heures) : nous ne savons en outre pas comment le sang a été enrichi en sucre et si la pression osmotique du sang a été respectée (Cf. De Meyer, 26, p. 94 et 95).

Kraus (86) exprime le même avis que Hédon. Mais ses expériences sont entachées de sérieuses causes d'erreur, parce que les glycolyses ont été appréciées non par la perte en sucre, mais par le CO^2 dégagé. Or, il résulte de recherches encore inédites de M. le docteur Slosse, que la formation de CO^2 dans la glycolyse du sang strictement aseptique, est pour ainsi dire nulle. Kraus compare en outre des glycolyses opérées à 39°-40°, à des glycolyses opérées à 60°; la perte en sucre du sang oxalaté à celle du sang normal! Bref, les conclusions de l'auteur ne s'appuient pas à notre sens sur des données expérimentales suffisamment inattaquables.

Seegen (87) a également effectué des expériences de glycolyse dans du sang additionné de glucose. Une phrase écrite par l'auteur juge ce travail : « Das Blut, dit-il, war ganz dunkel und hatte einen faden, unangenehmen Geruch. » Nous n'insisterons donc pas sur les conclusions formulées dans ce mémoire.

Lesné et Dreyfus (102) affirment aussi que la glycolyse est la même dans le sang de lapins normaux et de lapins injectés de quelques grammes de glucose par kgr. d'animal. Mais nous pensons que ces auteurs ont trop dilué le sang (40 c. c. de sang dans 60 c. c. d'eau) pour être à même d'observer des phénomènes physiologiques.

Pavy (88), par contre, a exécuté une série de glycolyses dans des conditions excellentes. Il confirme absolument les conclusions du travail de Lépine et Metroz (84). Il voit donc que l'enrichissement du sang en sucre occasionne une perte absolue de glucose plus grande. Et, en calculant ses chiffres, nous trouvons comme pour ceux publiés par les auteurs français que, pour chaque gramme de sucre en plus par litre de sang, la glycolyse

est devenue approximativement 1,3 à 1,5 fois plus intense.

La question nous paraît donc tranchée : *l'enrichissement du sang en sucre a pour effet d'augmenter l'intensité de la glycolyse (celle-ci étant calculée en chiffres absolus). Chaque gramme de sucre en plus par litre augmente environ 1,5 fois la perte en glucose.*

Nous pouvons étudier maintenant les chiffres concernant la puissance glycolytique du sang d'animaux dépancréatés ou de malades atteints de diabète,

Lépine (39) étudie, dans un premier travail, la perte de sucre dans du sang normal de chien et dans du sang de chien dépancréaté. Il ressort des chiffres de l'auteur, que la perte absolue a été dans le sang diabétique ou bien égale, ou bien plus petite que la perte dans le sang normal. Les expériences prouvent donc indubitablement que la glycolyse a été fortement entravée dans le sang de chien dépancréaté.

Ces expériences sont vérifiées par Lépine et Barral (91) dans un autre travail. Les auteurs y publient, en outre, une expérience de circulation artificielle à travers le rein au moyen de l'appareil de Jacoby (92), cela avec du sang normal et du sang d'animal dépancréaté. Ils constatent que le sang normal perd 15 0/0 de sucre en plus que le même sang qui n'a pas circulé, alors que le sang diabétique ne perd que 6 0/0 en plus.

Lépine et Barral (93) font la même opération dans une patte de chien et constatent, qu'en 1 heure, le sang normal perd 60 0/0 de son glucose, alors que du sang diabétique n'en perd pas même 30 0/0.

Chauveau et Kaufmann (42) dosent comparativement le sucre de l'artère et de la veine fémorale chez des chiens normaux et diabétiques. La perte de sucre subie par le sang veineux est sensiblement la même chez les deux espèces d'animaux. Les auteurs en infèrent que l'hyperglycémie diabétique n'est pas due à une diminution de la glycolyse.

Cette conclusion ne nous paraît pas probante parce que, dans ces expériences, les phénomènes d'absorption de glucose par les tissus se sont superposés aux phénomènes de glycolyse proprement dits.

Lépine et Barral (94) ont publié encore un mémoire sur la glycolyse dans le sang de malades atteints d'affections diverses

et notamment de diabète. L'examen de la perte absolue en glucose éprouvée par les différents sangs, montre nettement que dans le diabète il y a eu une diminution de la perte absolue de sucre, donc une diminution manifeste du pouvoir glycolytique.

Minkowski (23) n'admet pas cette conclusion. Il dit avoir examiné l'intensité de la glycolyse chez des chiens dépancréatés et ne pas avoir observé de diminution de la perte de sucre. Mais l'auteur ne donne pas de chiffres. Il est donc impossible d'interpréter son expérience en toute connaissance de cause.

Spitzer (85) a étudié la glycolyse dans le sang des diabétiques, et constaté que la perte absolue n'est pas plus petite que dans le sang de personnes atteintes d'autres affections. Mais l'auteur, au lieu de faire ses expériences dans du sang tel quel, a mélangé 10-20 c. c. de sang à 50 c. c. de glucose. On voit de suite ce qu'un tel mode opératoire entraîne de causes d'erreur.

Kraus (86), dans le travail dont nous avons déjà parlé, a étudié aussi la perte de sucre dans le sang de 7 diabétiques. Il conclut à une non diminution d'intensité de la glycolyse. Nous avons brièvement exposé toutes les causes d'erreurs entachant ses expériences.

Voilà les expériences, à la vérité peu nombreuses, qui ont été publiées sur la glycolyse dans le diabète. Nous pouvons encore mentionner ici un certain nombre de travaux prouvant indirectement que des rapports pourraient exister entre le ferment glycolytique et les phénomènes qui se passent dans le diabète.

Ainsi Lépine et Barral (95) constatent que la lymphe thoracique (très riche en ferment), injectée dans les veines d'un chien dépancréaté, diminue la glycosurie. Par contre, une trop grande soustraction de lymphe (liquide très riche en ferment glycolytique) pourrait faire apparaître de la glycosurie (citation Hédon. Article Diabète, diction. Richet).

Lépine et Barral (94 et 96) ont remplacé aussi la lymphe par de la diastase du malt et de la levure, et ont vu la glycosurie retrocéder dans quelques cas.

Notons ici que Von Mehring et Minkowski (99) et Hédon (38, p. 130) ont publié des expériences qui ne cadrent guère avec

celles de Lépine et Barral. Ainsi les premiers ont transfusé à un chien normal le sang d'un chien diabétique : le chien normal ne devint pas glycosurique. Hédon confirme cette expérience, mais, chose importante au point de vue théorique, il vit cependant la glycosurie s'abaisser pendant quelque temps chez un chien diabétique auquel il avait transfusé le sang d'un chien normal (38 p. 133). On pourrait donc croire qu'à l'état normal la glycémie peut se régler sans l'intervention du ferment glycolytique. Nous ne le pensons pas, car il est évident que, dans les expériences de transfusion, le sang diabétique injecté, traversant le pancréas et les organes hématopoiétiques du chien sain, n'a pas tardé à acquérir des propriétés toutes nouvelles.

Quelques auteurs ont essayé aussi de faire des expériences de glycolyse à l'intérieur de l'organisme, donc dans les vaisseaux, après l'isolement du foie, cela chez des animaux diabétiques ou non. Ces expériences ont donné des résultats peu concordants. Seegen (5 *a*, *d*) et Hédon (38) en ont exécuté quelques-unes; l'inégalité des résultats tient vraisemblablement à ce qu'après la mort, la coagulation et la désoxygénation du sang sont venues altérer ou entraver les processus glycolytiques.

Kaufmann (97-43) laisse le sang circuler dans des animaux, dépancréatés ou non, dont le foie avait été virtuellement isolé par toute une série de ligatures. Il constate que le sang diabétique s'appauvrit en glucose aussi vite que du sang normal. La glycolyse s'opérerait donc encore chez les diabétiques. Mais on sait par les travaux de Lüthje (100) que les cellules des diabétiques peuvent encore utiliser une quantité appréciable de sucre : l'expérience de Kaufmann ne suffit donc pas pour trancher la question de l'absence de glycolyse dans le diabète.

Kausch (98) a vu aussi chez les oiseaux granivores que le glucose du sang diminue aussi vite chez les animaux sans pancréas et sans foie, que chez les animaux privés seulement de leur foie. [Cf. aussi Marcuse (103)]. Mais ces expériences ne peuvent non plus servir à trancher la question de l'absence de glycolyse après la dépancréatisation, parce que l'expérience n'a pas dissocié les phénomènes glycolytiques des phénomènes d'absorption par les cellules.

Il résulte donc en résumé de cet aperçu bibliographique, que le sang reste glycolytique dans le diabète, mais à un degré manifestement moins élevé que le sang normal. Ce fait se concilie sans doute difficilement avec la thèse que nous avons soutenue, suivant laquelle le ferment glycolytique sécrété à l'état de proferment, serait transformé en ferment actif par une « sensibilisatrice » faisant partie de la sécrétion interne du pancréas. Car lors de la dépancréatisation, cette sensibilisatrice faisant défaut, on devrait observer un arrêt complet de la glycolyse. Or cet arrêt *complet* a-t-il vraiment lieu *in vivo* ? Personne ne pourrait encore répondre définitivement à cette question : nous avons vu en effet que les expériences de Seegen, Hedon, Kaufmann et Kausch ne sont pas absolument probantes.

Nous avons essayé de tourner la difficulté en vaccinant des animaux contre du ferment glycolytique, et en étudiant l'action physiologique d'un sérum antiglycolytique. Nous avons observé la diminution de la glycolyse *in vitro*, nous avons amené la production chez l'animal de l'hyperglycémie et de la glycosurie, mais il nous est impossible de dire si notre sérum antiglycolytique a arrêté entièrement ou en partie, l'action du ferment à l'intérieur des vaisseaux. *In vitro* la glycolyse n'a été arrêtée qu'en partie, mais conclure de là qu'il en a été de même *in vivo* serait une erreur. En effet, en dehors de l'organisme, le sang défibriné est soumis à tout un ensemble d'excitations nouvelles qui ne se réalisent jamais à l'intérieur des vaisseaux. Ces excitations atteignent en premier lieu la vitalité des éléments figurés : ceux-ci pourraient donc très bien abandonner dans le plasma des substances semblables à la sensibilisatrice pancréatique. Le proferment du sang diabétique deviendrait actif par le fait même, et on s'expliquerait de la sorte la glycolyse légère qui existe encore dans ce sang. Ce raisonnement s'accorde du reste assez bien avec d'autres faits mis en relief par les physiologistes : ainsi Delezenne n'a-t-il pas démontré que les leucocytes contenaient en grande quantité, la substance nécessaire à la sensibilisation du trypsinogène, alors que ces éléments n'ont certes pas pour rôle, dans leur vie ordinaire, d'activer le suc pancréatique.

La glycolyse légère du sang diabétique *in vitro* s'expliquerait cependant plus facilement, si on considérait simplement la

sécrétion interne du pancréas, non comme sensibilisatrice, mais comme une substance favorisante du ferment glycolytique. La dépancréatisation priverait le ferment de son excitant normal, ou, plus exactement, rendrait le milieu interne beaucoup moins propre à son action et on comprendrait encore bien la présence de la glycolyse dans le sang diabétique.

Nous nous garderons cependant bien pour le moment de choisir entre les deux théories en présence. Ce que nous avons essayé de faire dans nos expériences a été d'atteindre la glycolyse *in vivo* par un sérum spécifique. Si nous ne sommes pas encore parvenu à trancher définitivement la question de savoir si le sang diabétique possède encore réellement au sein de l'organisme un pouvoir glycolytique, nous montrerons cependant qu'une atteinte portée à la fonction glycolytique par un antiferment spécifique, a suffi pour amener les deux symptômes les plus pathognomoniques du diabète.

MÉTHODE

Nous nous sommes proposé de préparer un sérum antiglycolytique, affaiblissant ou même annihilant s'il se peut l'action du ferment glycolytique du chien. L'animal de passage choisi fut le lapin.

I. *Obtention du ferment glycolytique.*

Le moyen le plus certain de se procurer du ferment glycolytique actif, consiste à recueillir du sang, à le défibriner et à exciter les leucocytes par l'adjonction d'un peu d'eau distillée, ou mieux encore par quelques centimètres cubes d'extrait aqueux de pancréas, chauffé préalablement à 70° pendant 1/2 heure. Au lieu de sang on peut également faire usage — quoique d'une façon moins sûre — d'exsudat pleural aseptique obtenu par injection intrapleurale de bouillon gélatinisé. (50-60 c. c. de bouillon, contenant 12 0/0 de gélatine pour un animal de 5 kilogrammes. L'exsudat est ponctionné environ 36 heures après l'injection.

Un très grand nombre d'expériences nous ont montré, qu'en thèse générale, le meilleur milieu glycolytique est toujours le sang. Certes, on peut obtenir au moyen d'exsudats, des milieux détruisant activement le glucose, mais il se trouve aussi des exsudats doués d'un pouvoir glycolytique très faible. Cela tient peut-être à l'âge de l'exsudat, ainsi qu'à l'espèce des leucocytes qui le composent.

Pour extraire plus complètement le contenu des éléments figurés du sang, nous avons tenté d'employer la congélation. Nous pensions exciter

ainsi vivement les leucocytes et obtenir un liquide plus glycolytique. Nous n'avons pas lieu d'être extrêmement satisfait de cette méthode. Plusieurs exsudats congelés ne nous ont donné qu'une très faible glycolyse, dans deux expériences elle fut même tout à fait nulle; par contre, dans un cas seulement, en 5 heures, 75 0/0 du glucose initial avaient disparu.

Au début nous avons essayé de combiner la dessiccation à la congélation. Les liquides dégelés étaient versés rapidement dans des boîtes de Pétri et soumis au vide sulfurique. Au bout de 12 heures il ne restait qu'une croûte sèche qui était broyée et macérée avant l'emploi, pendant 1/2 heure dans l'étuve à 40°. Cette méthode nous a donné de très mauvais résultats : la dessiccation paraît détruire entièrement le ferment glycolytique.

Nous avons tenté aussi de nous servir de ferment glycolytique préparé par précipitation. On sait qu'un grand nombre d'auteurs affirment être parvenus à obtenir du ferment glycolytique à l'état pur. Nous avons déjà exposé dans notre premier travail (26 page 78) ce que nous pensions à ce sujet. Le mémoire le plus complet qui ait été consacré à cette question est celui de Sieber (57). L'auteur prend de la fibrine de cheval et en extrait du ferment glycolytique par 3 méthodes différentes; il obtient ainsi 3 ferments à propriété légèrement distinctes. La première méthode consiste à épuiser le caillot de fibrine par de l'eau distillée. Celle-ci est alors traitée par du $SO^4(AzH^4)^2$ (dialysé en suite) ou par du CO^2. Le ferment se précipite sous l'influence de ces deux agents. On reprend alors le caillot de fibrine par une solution concentrée d'un sel neutre (8 0/0 $KAzo^3$ ou NaCl par exemple) et on laisse au thermostat. La solution obtenue est précipitée soit par l'alcool, le CO^2, ou le $SO^4(AzH^4)^2$. Les sels sont enlevés par dialyse et on obtient ainsi le second ferment glycolytique. Le ferment glycolytique de la troisième espèce est extrait de l'eau de dialyse précédente; celle-ci est concentrée, les sels enlevés par filtration et le ferment précipité par l'alcool. Ce sont les ferments des deux premières précipitations qui présentent l'activité la plus grande.

On voit déjà de suite que ces méthodes d'obtention du ferment n'ont pu être mises en œuvre à l'abri des microbes. L'auteur, dans les glycolyses qu'il a effectuées, croit cependant s'être mis à l'abri des fermentations par l'emploi de chloroforme ou de thymol. Mais comme les glycolyses ont duré parfois jusque 30 jours — et cela à l'étuve — nous nous demandons si les opérations de Sieber ont bien été effectuées en milieu stérile. En outre, comme le pouvoir glycolytique de certaines préparations n'a pas été complètement annihilé par une ébullition à 100° et que les di et polysaccharides peuvent être dédoublés par ces ferments, il nous semble que les enzymes de Sieber sont bien différentes des enzymes normales du sang. Cette réapparition de la glycolyse après une ébullition notamment, et le fait qu'il y a eu dégagement de CO^2 et absorption d'O^2 dans des émulsions de ferment abandonnées au thermostat sans adjonction de glucose, nous fait croire que les bactéries pourraient ne pas avoir été étrangères à la destruction du sucre observée par l'auteur.

Nous avons cependant préparé du ferment glycolytique par la seconde méthode, cela tout à fait aseptiquement, sans faire le moindre usage d'anti-

septiques : le ferment obtenu s'est montré beaucoup moins actif que le sang, car en 6 heures il n'a fait perdre à une solution de sucre que 8,4 0/0 du sucre initial. Chose intéressante cependant, la solution aqueuse de ce ferment a traversé le filtre BERKFELD sans s'altérer de façon appréciable; en effet, en 6 heures elle a détruit aussi 8,3 0/0 du sucre initial. Comme nous ne sommes jamais parvenu à préparer un ferment plus actif, nous n'aurions eu aucun avantage à nous servir de la méthode de SIEBER puisque du sang normal détruit en moyenne par heure de 20 à 25 0/0 de son glucose.

La méthode de STOKLASA (58) (précipitation du sang par 2 volumes d'alcool-éther) ne nous a donné également qu'un ferment peu actif : il ne glycolysait en 7 heures que 5,4 0/0 du sucre total.

Il nous a donc paru préférable de n'employer comme solutions de ferment glycolytique, que du sang ou des exsudats pleuraux.

II. *Préparation des lapins et des sérums.*

Les lapins recevaient chaque semaine dans le péritoine des doses légèrement croissantes de préparation glycolytique. Ils pouvaient supporter sans maigrir 30 c. c. d'exsudat. Nous avons observé souvent que les liquides congelés sont moins bien supportés que les autres. Chaque animal a reçu au minimum 6 injections.

Les sérums sont recueillis aseptiquement 8 jours après la dernière injection. Ils furent toujours portés préalablement à 56° pendant 1/2 heure : ce traitement eut pour effet d'en enlever les propriétés glycolytiques et hémolytiques.

III. *Remarques sur les glycolyses.*

Toutes les glycolyses ont été opérées à l'étuve à 38-40°, cela dans du sang défibriné. Inutile d'insister sur le fait que toutes les opérations ont été exécutées aseptiquement. Le sang a souvent été enrichi d'un peu de glucose au moment de la prise : cela pour rendre les phénomènes plus nets. Jamais la dose de 5 grammes par litre de sang n'a été dépassée. Toutes les expériences d'une même série furent exécutées, sans exception, avec le même sang.

IV. *Désalbuminisation du sang.*

Cette opération, nécessaire pour le dosage du sucre après la glycolyse du sang, a été pratiquée dans ses grandes lignes suivant le procédé que nous avons décrit dans un travail précédent[1] (58). Nous y avons apporté

1. Le réactif mercurique a été fait suivant une méthode plus commode que celle qui est indiquée dans notre précédent travail. 400 grammes de nitrate mercurique sont mis dans 700 c. c. d'eau bouillante. Ils se dissolvent presque entièrement. La partie non dissoute, se solubilise en présence de quelques centimètres cubes d'acide nitrique. On complète alors jusqu'à un litre et on filtre.

cependant quelques modifications qui le rendent plus commode et plus expéditif. Ainsi il importe de broyer aussi finement que possible le précipité dans le vase même où il a été obtenu, et de le laver à l'eau bouillante jusqu'à ce que le liquide surnageant reste trouble. On emploie en général pour cela 400 c. c. d'eau : le précipité a été de la sorte lavé 8 à 10 fois. Les liquides de décantation sont directement récueillis dans un grand vase d'une contenance minima de 1 litre. Le précipité restant est broyé ensuite très finement avec du sable. Après chaque broyage il est lavé avec 100 c. c. d'eau bouillante. Celle-ci est versée sur un filtre en porcelaine : la filtration est faite à la trompe. Nous broyons le précipité 5 ou 6 fois, il est finalement jeté sur le filtre et séché par une aspiration intense. On réunit les eaux de lavage : elles atteignent en général 1,000 à 1,200 c. c. Le peu d'oxyde jaune de Hg qui s'y trouve, est dissous par quelques gouttes d'acide acétique dilué, le mercure enlevé par précipitation, et les liquides concentrés. Pendant tout le temps de la concentration nous gardons une forte réaction acide (réaction acétique) et, la concentration opérée, nous laissons l'acide s'évaporer.

V. *Dosage du glucose.*

Le dosage du glucose a été opéré suivant le procédé de Bertrand (59), procédé peut-être moins rigoureux que celui de Pfluger (60), mais d'une précision très largement suffisante. Cette méthode est surtout infiniment plus commode et plus courte. Bertrand recommande de faire bouillir le mélange de sucre et de liqueur cupro-potassique 3 minutes. Nous avons substitué à cela une immersion de 10 minutes et demie dans de l'eau maintenue en pleine ébullition : on peut ainsi faire une série de dosages plus comparativement.

Si la solution ferrique est bien sensibilisée au moyen de permanganate, si on n'emploie pas plus de 100 à 150 c. c. pour le lavage du filtre d'asbesthe, et si on prend la solution de permanganate — non à 5 0/0, ainsi que le conseille Bertrand, mais aux environs de 2,5 0/0 — on obtient un virage moins brusque, d'une netteté absolue, qui permet facilement d'atteindre une exactitude allant jusqu'à la 4e décimale.

Il importe évidemment de veiller — pour être bien sûr de ne doser que de l'oxydule — à ce que les précipités obtenus par réduction du Fehling aient une couleur nettement écarlate.

EXPOSÉ DES EXPÉRIENCES

En injectant aux lapins — suivant les procédés ordinaires de préparation des anticorps — des liquides contenant du ferment glycolytique, nous pouvions nous attendre à récolter une substance du groupe des antiferments, donc un sérum antiglycolytique. Les antiferments sont en effet connus depuis longtemps et on a obtenu des sérums nets contre la présure,

la trypsine, l'émulsine, etc. Comme les liquides injectés aux lapins n'ont jamais été prélevés que sur des chiens, nous n'avons préparé que du sérum antiglycolytique contre le ferment glycolytique du chien.

Une fois en possession du sérum nous avions :

1°. A le faire agir *in vitro* et à étudier son action sur la glycolyse normale du sang de chien ;

2°. A examiner — dans des expériences témoins — l'action du sérum de lapin neuf sur la glycolyse normale du sang de chien ;

3°. A le faire agir sur le chien lui-même et à étudier les variations survenues dans l'état glycémique de l'animal.

A. — *Influence exercée in vitro par le sérum antiglycolytique sur la glycolyse normale du sang des chiens.*

Dans cette série d'expériences, nous avons pris du sang ou de l'exsudat pleural de chien, y avons ajouté ou bien de l'eau physiologique (expériences témoins), ou bien du sérum de lapins vaccinés chauffé à 56°, ou bien le même sérum chauffé à 68°, cela en quantités strictement égales. Les glycolyses ont été opérées ensemble et toutes les opérations des dosages menées parallèlement.

Expérience I

Nous nous servons pour la glycolyse d'exsudat pleural de chien.

Le sérum antiglycolytique a été recueilli chez un lapin ayant reçu 8 injections de 10 c. c. de sang défibriné de chien.

A : 10 c. c. d'exsudat sont additionnés de 2 c. c. d'une solution de glucose (3 0/0 environ).

Avant la glycolyse nous trouvons en tout 39 mgr de glucose.

B : Même mélange soumis 6 heures à la glycolyse en présence de 2 c. c. de solution physiologique. (Expérience témoin.)

Retrouvons 28mgr,7 de sucre.

C : Même mélange soumis 6 heures à la glycolyse en présence de 2 c. c. de sérum de lapin.

Retrouvons 43mgr,5 de sucre.

D : Même mélange soumis 6 heures à la glycolyse en présence de 2 c. c. de sérum de lapin porté 1/2 heure à 56°.

Retrouvons 42mgr,9 de sucre.

E : Même mélange soumis 6 heures à la glycolyse en présence de 2 c. c. de sérum de lapin porté 1/2 heure à 68°.

Retrouvons 39mgr, de sucre.

F : Dosons le sucre dans 10 c. c. du sérum de lapin. Trouvons 40mgr,7. Donc 2 c. c. contiennent 8mgr,14.

Cette série d'expériences montre qu'en B il y a eu une perte de **10mgr,3** de sucre (= 26,4 0/0). En C il y avait au début 39 + 8,14 = 47mgr,14 de glucose. La perte est de **3mgr,64**, soit 7,72 0/0. En D il y avait aussi au début 47mgr,14 de glucose : perte de **4mgr,24** soit 9 0/0. En E perte de **8mgr,14**, soit 17mgr,25 0/0.

Cette première expérience nous montre que la glycolyse en présence de sérum de lapin tel qu'il a été recueilli ou porté à 56° (Exp. C et D) est bien moins active que la glycolyse opérée en présence d'un égal volume de solution physiologique (Exp. B.) Il y a donc eu, en C et D, une substance apportée par le sérum de lapin, qui a entravé les propriétés glycolytiques de l'exsudat. Cette substance ne peut être qu'un antiferment — donc, de l'antiglycolysine — puisque la température de 68° tend à la détruire, ainsi que le prouve l'expérience E.

Expérience II

La glycolyse a été opérée dans du sang défibriné de chien additionné d'un peu de glucose. Elle a duré 7 heures.

Le sérum provenait d'un lapin ayant reçu 12 injections de sang de chien.

A : 20 c. c. de sang contiennent avant la glycolyse, 60mgr de sucre.

B : 20 c. c. de sang sont mis à la glycolyse avec 3 c. c. d'eau physiologique.

Nous retrouvons 44mgr de glucose.

C : 20 c. c. de sang sont mis à la glycolyse avec 3 c. c. de sérum de lapin, porté 1/2 heure à 56°.

Nous retrouvons 56mgr,6 de sucre.

D : 20 c. c. de sang sont mis **à** la glycolyse avec 3 c. c. de sérum de lapin porté 1/2 heure à 68°.

Nous retrouvons 49mgr,5 de sucre.

S : Dosons le sucre dans 5 c. c. de sérum de lapin.

Nous trouvons 14mgr,8. Donc dans 3 c. c. il y a 8mgr,88.

Nous voyons donc qu'en B il y a eu une perte de **16**mgr, (=26,7 0/0). En C, puisque la quantité initiale de glucose était de 60 + 8,88 = 68,88, la perte est de **12**mgr**,28** (= 17,82 0/0). Est en D la perte est de **19**mgr**,38** soit 28,1 0/0.

Cette expérience confirme donc absolument la précédente. En présence de sérum de lapin vacciné, sérum porté à 56°, la glycolyse est beaucoup moins active qu'en présence de solution physiologique. La chaleur détruit l'antiglycolysine, puisque du sérum porté à 68° n'entrave plus du tout les propriétés glycolytiques du sang. Au contraire, si on compare l'expérience D à l'expérience B, on voit qu'il y a eu une légère activation du ferment glycolytique. Nous fournirons plus loin quelques explications sur ce fait spécial.

Expérience III

La glycolyse — qui a duré 7 heures — a été opérée dans de l'exsudat pleural enrichi d'un peu de glucose. Le sérum provenait d'un lapin ayant reçu 12 injections de sang de chien.

A : 20 c. c. d'exsudat contiennent avant la glycolyse, 61mgr de sucre.

B : 20 c. c. d'exsudat sont mis à la glycolyse avec 3 c. c. de solution physiologique.

Nous retrouvons 33mgr de glucose.

C : 20 c. c. d'exsudat sont mis à la glycolyse avec 3 c. c. de sérum de lapin porté à 56°.

Nous retrouvons 45mgr,5 de glucose.

D : 20 c. c. d'exsudat sont mis à la glycolyse avec 2 c. c. de sérum de lapin porté à 68°.

Nous retrouvons 35mgr,8 de glucose.

S : Nous dosons le glucose dans 5 c. c. de sérum de lapin. Trouvé 14mgr,8. Donc dans 3 c. c. il y avait 8mgr,88.

Nous voyons qu'en B il y a eu une perte de **28**mgr de glucose (=45,8 0/0). En C on part de 61 + 8,88 = 69,88 de sucre; la perte est donc de **24,38**, soit 34,9 0/0. En D il y avait avant la glycolyse 61 + 5,92 = 66,92; la perte est donc de **31,12** de sucre, soit 46,5 0/0.

Ces résultats sont entièrement conformes aux résultats de l'expérience II. La glycolyse est manifestement ralentie par le sérum de lapin chauffé à 56°; la chaleur détruit la substance

antiglycolytique et le sérum de lapin chauffé à 68° active même légèrement les propriétés glycolytiques de l'exsudat.

Expérience IV

La glycolyse — qui a duré 5 heures — est opérée dans du sang de chien. Le sérum a été recueilli chez un lapin ayant reçu 10 injections (chacune de 20-30 c. c.) d'exsudat de chien ayant eu ses propriétés glycolytiques activées (soit par quelques centimètres cubes d'eau distillée, soit par un peu d'extrait pancréatique). Quelques exsudats avaient également été congelés.

A : 20 c. c. de sang contiennent avant la glycolyse 37mgr,5 de sucre.

B : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 10 c. c. de solution physiologique.

Nous retrouvons 12mgr,1 de glucose.

C : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 10 c. c. de sérum de lapin porté à 56°.

Nous retrouvons 27mgr,6 de glucose.

S : Nous dosons le sucre dans 10 c. c. de sérum de lapin : = 18mgr,5.

Nous voyons qu'en B il y a une perte de **25mgr,4** (= 67,75 0/0). En C il y avait avant la glycolyse 37,5 + 18,5 = 56mgr de sucre. La perte est de **18mgr,4**. Ce qui fait 32,9 0/0.

Cette expérience nous prouve une nouvelle fois, que le sérum de lapin vacciné contient une antiglycolysine qui entrave nettement la glycolyse.

Expérience V

La glycolyse — qui a duré 6 heures — est opérée dans du sang de chien enrichi d'un peu de glucose. Le sérum provient de 2 lapins injectés avec de l'exsudat de chien rendu plus glycolytique, soit par l'adjonction de quelques centimètres cubes d'eau distillée, d'extrait pancréatique, soit par congélation. L'un des lapins avait reçu 15 injections, l'autre 8 (par injection : 20-30 c. c. d'exsudat).

A : 20 c. c. de sang contiennent avant la glycolyse 60mgr de sucre ;

B : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de solution physiologique.

Nous trouvons 24mgr,8 de glucose.

C : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin porté à 56°.

Nous trouvons 37mgr,9 de glucose.

D : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin porté à 68°.

Nous trouvons 34 milligrammes de glucose.

S : Nous dosons le sucre dans 10 c. c. de sérum de lapin = 8mgr,57 de glucose. Donc 5 c. c. contenaient 4mgr,28 de glucose.

Nous voyons qu'en B la glycolyse a fait disparaître **35mgr,2** de sucre. Donc perte de 58,6 0/0. En C on part de 60 + 4,28 = 64,28 ; la perte est de **26,38** soit 41 0/0. En D la perte est de **30,28** = 47,2 0/0.

La glycolyse est donc manifestement moins intense en présence de sérum de lapin porté à 56° ; elle tend à redevenir normale quand ce sérum a été chauffé à 68° [1].

Expérience VI

La glycolyse — d'une durée de 6 heures — a été opérée dans du sang de chien additionné d'un peu de glucose. Les lapins qui ont fourni le sérum, ont été préparés d'une manière un peu différente des expériences précédentes. Nous basant sur les données de notre premier mémoire (26), données suivant lesquelles la sécrétion interne du pancréas constitue une substance favorisante — peut-être même intégrante — du ferment glycolytique, nous avons injecté aux lapins une grande quantité d'extrait pancréatique [2], additionné d'un peu de sang. A chaque injection, le lapin recevait en moyenne 1/3 de pancréas de chien et 5 c. c. de sang défibriné. Le sérum dont nous avons fait usage provenait de deux lapins ayant reçu respectivement 6 et 5 injections.

1. Dans cette expérience, ainsi que dans l'expérience I, la glycolyse en présence de sérum chauffé à 68° n'est pourtant pas aussi intense qu'en présence d'un égal volume de solution physiologique. Par contre, ainsi que nous l'avons observé dans les expériences II, III, il y a plutôt renforcement de l'activité glycolytique, par le sérum porté à 68° : nous chercherons plus loin à interpréter ces faits. Si nous n'avons pas observé le fait ici — ainsi du reste que dans l'expérience I, — cela tient vraisemblablement à ce que la température de 68° avait légèrement coagulé nos sérums.

2. L'extrait était préparé comme suit : le pancréas, tout frais, est découpé en petits morceaux et porté rapidement à 70°. Les morceaux sont finement broyés avec du sable, puis mélangés au liquide, et le tout est maintenu alors une demi-heure à 70°. On sépare les parties solides et le sable par centrifugation.

A : 20 c. c. de sang contiennent avant la glycolyse 60^{mgr} de glucose.

B : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de solution physiologique.

Nous retrouvons 24^{mgr},8 de glucose.

C : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin porté à 56°.

Nous retrouvons 42^{mgr} de glucoce.

D : 20 c. c. de sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin porté à 68°.

Nous retrouvons 39^{mgr},4 de glucose.

S : Nous dosons le sucre dans 10 c. c. de sérum de lapin. Nous trouvons 11^{mgr},3. Ce qui fait pour 5 c. c. de sérum 5^{mgr},65.

En B la perte est de **35^{mgr},2** soit 58,6 0/0. En C il y avait au début $60 + 5^{mgr},65 = 65^{mgr},65$ de sucre; la perte est de **23,65** soit 36 0/0. En D la perte est de **26^{mgr},25** soit 40 0/0.

Ce sérum chauffé à 56° a donc diminué dans une forte mesure l'intensité de la glycolyse; le chauffage à 68° lui fait perdre ses propriétés antiglycolytiques, puisque la perte de sucre devient plus grande. Mais le sérum ayant présenté à 68° un début de coagulation, nous lui appliquons la même remarque qu'à l'expérience précédente.

Expérience VII

La glycolyse a été opérée dans du plasma de bœuf, obtenu par centrifugation de sang de bœuf frais. Ce plasma a été additionné de glucose. La glycolyse a duré 7 heures. Le sérum antiglycolytique provenait d'un lapin ayant reçu 7 injections de sang de bœuf (5-10 c. c. par injection).

A. — 20 c. c. de plasma de bœuf contiennent avant la glycolyse 100^{mgr} de glucose.

B. — 20 c. c. de plasma sont glycolysés en présence de 5 c. c. de solution physiologique.

Le dosage nous donne 60^{mgr} de glucose.

C. — 20 c. c. de plasma sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin porté à 56°.

Nous retrouvons 84^{mgr},9.

D. — 20 c. c. de plasma sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin, porté à 68°.

Nous retrouvons 74^{mgr},9.

S. — Nous dosons le sucre dans 5 c. c. de sérum de lapin.

Nous trouvons 20^{mgr},1 de glucose.

En B il y a donc une perte de **40**mgr de glucose soit 40 0/0. En C il y avait au début 120mgr,1 de sucre; la glycolyse a fait perdre **35,2**mgr : la perte est donc de 29,1 0/0. En D, la perte est de **45,2**mgr soit 37,4 0/0.

Le sérum des lapins ayant reçu du sang de bœuf possède donc des propriétés antiglycolytiques nettes, propriétés détruites par le chauffage à 68°, puisqu'en D la perte de sucre est presque égale à celle qui a eu lieu en présence du même nombre de centimètres cubes de solution physiologique.

Nous croyons pouvoir conclure de ces sept séries d'expériences :

1° *Que l'injection au lapin, de ferment glycolytique de chien, développe dans le sérum du lapin une substance qui retarde* in vitro *la glycolyse du sang de chien.*

2° *Que cette substance ne peut être qu'un antiferment, donc une antiglycolysine, puisqu'elle résiste à* 56°, *mais qu'elle est détruite entre* 68° *et* 70°.

Ces données montrent bien que le sérum antiglycolytique a fait diminuer dans une forte mesure — mais sans la supprimer entièrement — l'activité de la glycolyse. L'état glycémique du sang peut donc être réglé par l'activité propre de ses éléments. Le sang peut ainsi s'enrichir ou s'appauvrir en sucre sans que le foie, le système nerveux ou quelque autre organe doive nécessairement intervenir.

Ces résultats nous laissent entrevoir déjà que l'hyperglycémie pourrait bien apparaître *dans l'organisme* à la suite du ralentissement de la fonction glycolytique des leucocytes.

B. — *Influence exercée par le sérum de lapin neuf sur la glycolyse du sang de chien.*

Il est évident que les conclusions que nous venons de formuler n'ont de valeur, que pour autant que le sérum de lapin neuf n'exerce aucune action empêchante sur la glycolyse du sang de chien. Nous nous sommes assurés de ce fait dans les expériences témoins suivantes.

Expérience VIII.

La glycolyse s'opère pendant 6 h. et demie dans du sang de chien enrichi d'un peu de glucose.

Le sérum de lapin, recueilli la veille, est porté préalablement 1/2 heure à 56°. Les propriétés glycolytiques propres ont été ainsi annihilées.

X. — 20 c. c. de sang sont dosés avant la glycolyse. Ils contiennent 83 mgr,5 de sucre.

Y. — 20 c. c. de sang sont portés à la glycolyse avec 10 c. c. de solution physiologique.

Nous retrouvons 49mgr de glucose.

Z. — 20 c. c. de sang sont portés à la glycolyse avec 10 c. c. de sérum de lapin.

Nous retrouvons 54mgr de glucose.

S. — Nous dosons le glucose dans 13,5 c. c. de sérum de lapin.

Nous trouvons 34mgr,8 de glycose.

Nous voyons que la perte en Y est de **34mgr,5** soit 41,3 0/0. En Z, en ajoutant le sérum, nous avons ajouté 25mgr,75 de glucose; la quantité initiale de sucre était de 83,5 + 25,75 = 109,25. La perte est donc de **55,25** ce qui fait 50,5 0/0.

Le sérum de lapin neuf, contrairement aux sérums des lapins vaccinés, a donc activé la glycolyse.

Expérience IX

L'expérience est faite dans les mêmes conditions que l'expérience précédente.

X. — 20 c. c. de sang (additionnés d'un peu de glucose) contiennent avant la glycolyse 85 mgr, 5 de sucre.

Y. — 20 c. c. du même sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de solution physiologique.

Nous retrouvons après 7 heures de glycolyse 61 mgr. de glucose.

Z. — 20 c. c. du même sang sont glycolysés en présence de 5 c. c. de sérum de lapin neuf (chauffé à 56°).

Nous retrouvons 69 mgr. de sucre.

S. — Nous dosons le glucose dans 9 c. c. de sérum de lapin.

Nous retrouvons 45 mgr, 4 de sucre.

Ces chiffres nous montrent qu'en Y il y a eu une perte de **24,5**, soit de 28, 65 0/0. En Z, la quantité initiale de glucose est

de 85, 5 + 25, 2 = 110,7. La perte est de **41** mgr,**7**, soit 37, 7 0/0.

La glycolyse est donc beaucoup plus active en présence de sérum chauffé à 56°, qu'en présence d'un égal volume de solution physiologique. Cette expérience est certes en tous points confirmative de l'expérience précédente.

Nous voyons par conséquent que le sérum de lapin neuf exerce, sur la glycolyse du sang de chien, un effet absolument inverse de celui que donne le sérum des lapins vaccinés. Nous avons vu en effet que ce dernier — quand il n'a pas été porté à une température supérieure à 56° — retarde dans une très large mesure l'intensité de la glycolyse.

Mais nous avons constaté aussi, dans les expériences II, III et VII, que le sérum de lapin porté à 68° avait non seulement perdu tout à fait ses propriétés antiglycolytiques, mais excitait les propriétés glycodestructrices du sang, puisque dans ces conditions la quantité absolue du sucre détruite était plus élevée qu'en présence de solution physiologique. Comment se fait-il donc qu'un sérum de lapin neuf, ou qu'un sérum de lapin vacciné, porté à 68°, puisse influencer et exciter la glycolyse?

La réponse à cette question est donnée dans les expériences relatées pages 118-121 de notre premier mémoire (26). A l'état normal, le pancréas du lapin déverse dans le sang sa sécrétion interne : cette sécrétion — ainsi que nous l'avons amplement démontré — excite dans de fortes proportions la glycolyse dans le sang de lapin. Or il peut très bien se faire que le produit de la sécrétion interne du pancréas ne soit pas spécifique pour un animal donné; la sécrétion pancréatique d'un lapin ou d'un chien par exemple pourrait très bien favoriser la glycolyse dans le sang du veau ou du cobaye, tout comme l'enterokinase de bœuf peut sensibiliser le trypsinogène du chien. Nous nous expliquerions ainsi très bien le fait que le sérum de lapin neuf excite la glycolyse du sang de chien.

Pour ce qui est du sérum des lapins vaccinés, porté à 68°, il en est absolument de même; la chaleur a détruit la substance antiglycolytique, mais le produit de la sécrétion interne du lapin persiste dans ce sérum. [Nous avons en effet démontré (chez le

chien) que la sécrétion interne du pancréas exerce encore son action sur la glycolyse même après un chauffage à 115°.] Nous pensons que c'est ce produit qui a activé la glycolyse dans le sang de chien et dans le plasma de bœuf. (Expérience VII.) Si nous n'avons cependant pas observé ce fait indistinctement dans toutes nos expériences, cela tient vraisemblablement à ce que le chauffage à 68° n'avait pas encore détruit la totalité des substances antiglycolytiques, ou avait altéré certaines des propriétés de quelques-uns de nos sérums en produisant un début de coagulation.

Fort probablement donc le produit de la sécrétion interne du pancréas n'est pas spécifique. Nous signalerons encore ici, à ce propos, une expérience de Cohnheim (75, p. 267), d'après laquelle l'extrait pancréatique de bœuf active la glycolyse dans un extrait de muscle de chat. Ces faits nous permettent d'entrevoir que pour instituer un traitement opothérapique du pancréas chez un organisme quelconque, il ne sera peut-être pas nécessaire d'avoir recours à des pancréas de la même espèce.

Nous ferons ressortir encore en dernier lieu que le sérum des lapins vaccinés porté à 56° contenait deux substances agissant en sens contraire sur la glycolyse : 1° le ferment antiglycolytique développé par les vaccinations ; 2° la sécrétion interne du pancréas des lapins, sécrétion excitant la fonction glycolytique. Puisque les expériences I à VII ont montré qu'il y avait un ralentissement des plus manifestes de la glycolyse, nous sommes en droit d'affirmer qu'en réalité le pouvoir antiglycolytique de nos sérums était plus puissant que ne l'ont fait ressortir nos analyses, puisqu'ils étaient certainement mélangés d'une substance favorisant les processus glycolytiques.

C. — *Influence exercée par le sérum antiglycolytique, in vivo.*

Le sérum des lapins vaccinés s'oppose donc à la glycolyse du sang de chien *in vitro*. Il était intéressant de voir quel était son action *in vivo*, à l'intérieur des vaisseaux, et quel effet l'injection d'un pareil sérum aurait exercé sur l'état glycémique de l'organisme.

Voici comment les expériences ont été disposées :

Un chien est lié sur l'appareil à contention, sans avoir reçu ni morphine

ni chloroforme. La veine jugulaire externe est mise à nu et disposée de telle sorte qu'on puisse aspirer facilement et rapidement au moyen d'une seringue et à travers sa paroi, une vingtaine de centimètres cubes de sang. On a à sa portée un vase taré contenant de la solution mercurique, dans lequel aussitôt sera projeté le contenu de la seringue, sitôt la prise de sang faite. On connaîtra ainsi le poids du sang recueilli ; le calcul du taux du glucose par litre de sang pourra se faire aisément en connaissant la densité du sang. Celle-ci est très peu variable (WETTENDORF 61); nous avons toujours fait usage du chiffre de densité 1054.

Une canule est liée dans une des veines saphènes, et après une prise de sang par la jugulaire, on injecte dans l'animal le sérum antiglycolytique. Alors, dans des laps de temps variables, on prélève du sang à la jugulaire [le cours du sang n'y a donc pas été interrompu], sang qui est soumis aussitôt à l'analyse. Entre les prises de sang, on fait de nouvelles injections dans la veine saphène. Le détail de ces opérations sera du reste exposé dans le compte rendu de nos expériences.

Avant, pendant et après l'expérience, nous tâchons de récolter assez d'urine pour pouvoir la soumettre à l'analyse. Nous avons ainsi été à même de nous rendre compte du taux du sucre du sang avant l'injection du sérum, de suivre les variations de ce taux après les injections et de nous assurer de l'absence ou de la présence de la glycosurie.

Il reste deux mots à dire de la préparation des sérums.

Ces sérums ayant été obtenus par injection aux lapins d'exsudat ou de sang de chien, étaient évidemment hémolytiques et agglutinants. Le chauffage à 55° détruisait d'abord le ferment glycolytique propre du sérum, puis l'alexine hémolytique, en laissant intacte la sensibilisatrice et l'agglutinine. Ces deux substances ne pouvaient être détruites par la chaleur, puisque nous aurions par le fait même détruit l'antiglycolysine. Aussi nous sommes-nous débarrassés de l'agglutinine par le contact répété avec des globules rouges de chien soigneusement lavés ; quatre contacts d'un égal volume de sérum et de globules furent nécessaires. Ce point devait évidemment être pris en considération, puisque l'injection au chien de sérum agglutinant aurait pu provoquer dans son sang, et partant dans tout l'organisme, les troubles les plus profonds. Quant à la présence de sensibilisatrice hémolytique, elle n'était, dans le cas particulier, d'aucune importance, le sérum de lapin vacciné contre du sang de chien étant dans l'impossibilité, après chauffage à 56°, d'être réactivé par l'alexine de chien. Les sérums dont nous fîmes usage ne purent donc jamais occasionner d'hémolyse.

Tous les sérums injectés au chien furent par conséquent portés préalablement une 1/2 heure à 56° et mis en contact avec des globules.

Expérience X.

Nous recueillons le sérum d'un lapin ayant reçu 16 injections de sang de chien, sang dont la glycolyse avait été excitée soit par de l'eau distillée, soit par de l'extrait pancréatique, ou par une congélation rapide.

Le chien pèse 6k,620.

I. — La première prise de sang est faite dans la jugulaire. Elle donne 11gr,67 de sang; glucose par litre : **2gr,07.**

Quinze minutes plus tard, injection de 10 c. c. de sérum antiglycolytique.

L'animal ne manifeste aucun trouble.

II. — Quinze minutes après l'injection, prise de 11gr,75 de sang; glucose par litre : **3gr,782**

Dix minutes après la prise, injection de 10 c. c, de sérum antiglycolytique.

III. — Après quinze minutes, prise de 12gr,05 de sang; glucose par litre : **3,775.**

Cinq minutes après la prise, injection de 13 c. c. de sérum antiglycolytique.

IV. — Une demi-heure après prise de 10gr,55 de sang; glucose par litre **3gr,899.**

V. — Après 40 minutes prise de 11gr,5 de sang; glucose par litre **3gr,485.**

VI. — Après 45 minutes prise de **13gr,95** de sang; glucose par litre **3gr.1**

Nous recueillons après la dernière prise 3 c. c. d'urine. Elle est déféquée au nitrate mercurique et analysée : nous trouvons **4gr,7** de glucose par litre. Quelques centimètres cubes d'urine recueillis chez le chien avant l'opération nous avaient donné des réactions absolument négatives [1].

Cette expérience prouve clairement que, dès la première injection de sérum antiglycolytique, le taux du glucose du sang s'élève, par litre, dans une très forte proportion. L'effet du sérum antiglycolytique est donc instantané; fort probablement un mécanisme intermédiaire n'est pas entré en jeu ici, car s'il en avait été ainsi nous n'aurions vraisemblablement pas observé une hyperglycémie aussi brusque. Et il s'agit bien ici d'une hyperglycémie vraie, car, après la première injection de sérum

1. Comme réactions habituelles nous avons choisi celle de Worm-Muller (exécutée suivant le procédé de Pflugèr), celle de Fehling (en ayant soin de ne pas chauffer la surface du liquide jusqu'à ébullition), et la réaction de Nylander.

Notons qu'aucune des urines recueillies n'a jamais présenté la moindre trace d'hémoglobine.

antiglycolytique, le sang a contenu toujours plus de 3 grammes de glucose par litre. Le sérum a donc agi *in vivo* comme il avait agi *in vitro*, en diminuant la rapidité de la glycolyse, ou en la supprimant tout à fait. Et ce trouble de la fonction glycolytique a dû être profond, puisque l'hyperglycémie persistait encore deux heures après la dernière injection de sérum ; tout à fait caractéristique est donc l'apparition, chez ce chien, d'un diabète artificiellement provoqué. Outre l'hyperglycémie il y a eu dans ce cas, une glycosurie des plus nettes.

Expérience XI.

Nous nous servons du sérum d'un lapin ayant reçu 7 injections de sang de chien. Les propriétés glycolytiques de ce sang avaient été excitées soit par une congélation rapide, soit par l'adjonction d'un peu d'extrait pancréatique.

Chien de 3 kgr. 500.

I. — La première prise de sang est de 11gr,65 ; glucose par litre **1gr,675.**

Immédiatement après nous injections 10 c. c. de sérum, et 10 minutes plus tard 5 autres c. c.

II. — Un quart heure après, nous prélevons 11gr,95 de sang ; glucose par litre : **2gr,480.**

Nous injectons de suite après 10 c. c. de sérum.

III. — Après un quart d'heure, prise de 9gr,05 de sang ; glucose par litre : **2gr,960.**

Nouvelle injection de 13 c. c. de sérum.

IV. — 25 minutes après, prise de 13gr,55 de sang ; glucose par litre : **2gr,17.**

V. — Après 35 minutes, prise de 12gr,65 de sang ; glucose par litre **2gr,01.**

VI. — Après 30 minutes, prise de 14gr,7 de sang ; glucose par litre **2,58.**

9 c. c. d'urine ont été recueillis après la quatrième prise de sang (IV). Nous y trouvons par litre **4gr,43** de glucose.

Après la dernière prise de sang, nous recueillons 20 c. c. d'urine. L'analyse indique **2gr,89** de glucose par litre.

Les résultats de cette expérience sont donc absolument conformes aux résultats fournis par l'expérience X : l'effet de l'injection de sérum antiglycolytique a été : 1° d'augmenter dès la première injection le taux de glucose du sang ; 2° de provoquer un degré net d'hyperglycémie ; 3° de provoquer de la glycosurie.

Le degré d'hyperglycémie atteint est certes moins élevé dans

cette expérience que dans l'expérience précédente, où le taux du glucose s'est élevé jusqu'à 3gr,899 : cela s'explique vraisemblablement par le fait que les sérums employés n'avaient pas la même activité.

Un fait digne de remarque aussi est celui qui concerne l'apparition de la glycosurie, alors que le sang n'a pas dépassé — d'après nos dosages — 2gr,96 de glucose par litre. L'opinion généralement admise, c'est que le sucre ne traverse les reins que quand il y a 3 grammes de glucose par litre. Nous ferons observer cependant qu'il se peut très bien qu'entre la 2e et la 4e prise, le sang ait contenu plus de 2gr,96 de glucose par litre, car ce n'est évidemment là que le taux du sucre de l'urine *à un moment donné*. En outre, les auteurs signalent qu'on peut observer la glycosurie — cela dans des diabètes non phlorhydiques — avec moins de 3 grammes de sucre par litre de sang. Ainsi, Hédon (38 pg. 100) indique qu'un chien ayant 2gr,3 de glucose par litre de sang, éliminait 5 grammes de sucre pour 100 d'urine. Un autre chien était aussi diabétique avec 2gr,4 de glucose par litre de sang. Hédon signale notamment (38 pg. 93) qu'une glycosurie assez forte peut coïncider chez les animaux dépancréatés avec un état glycémique presque normal, cela dans les cas de diabète à forme légère. Ainsi chez un animal n'ayant dans le sang que 1gr,500 de sucre par litre, il y avait dans l'urine de 11 à 12 grammes de glucose par litre. Frerich (62) signale aussi le cas d'un malade présentant 2gr,8 de sucre dans son sang, et éliminant 3,5 °/o de glucose dans l'urine. Le même auteur signale aussi chez un animal dépancréaté un taux de glucose du sang de 2gr,8 avec une glycosurie de 6,2 0/0.

Lépine et Barral (76) montrent de leur côté, dans des expériences conduites très comparativement, qu'il y avait glycosurie chez des chiens au moment où leur sang ne contenait que 2,4 : 2,3 ; 2,1 ; 2 grammes de glucose par litre.

Seegen (5c) signale, aussi chez un malade atteint de diabète, un taux de 1gr,8 de glucose par litre de sang.

Les chiffres du glucose du sang chez des organismes diabétiques sont donc assez variables : cela tient à un ensemble de causes trop complexes pour être discutées ici avec quelque détail; et peut-être à ce fait que les analyses ont été exécutées

les unes dans du sang artériel, les autres dans du sang veineux, les unes chez des organismes à jeun, les autres chez des organismes en pleine digestion.

Nous pensons donc, quoiqu'il y ait peut-être certaines réserves à faire au sujet de l'opinion de Hédon, concernant l'apparition de la glycosurie chez des animaux non hyperglycémiques, qu'il ne faut pas prendre le taux de 3 0/00 d'une façon trop absolue. Les chiffres de notre expérience XI ne sont donc pas forcément en contradiction avec les données classiques concernant les rapports entre l'hyperglycémie et la glycosurie.

Expérience XII.

Nous prenons le sérum de 2 lapins ayant reçu l'un 15 injections, l'autre 8 d'exsudat pleural de chien, exsudat ayant eu ses propriétés glycolytiques excitées par la congélation ou l'adjonction d'un peu d'extrait pancréatique. Les sérums des 2 lapins sont mélangés.

Chien de 4 k. 800.

I. — Prise de 13gr,30 de sang au début de l'expérience; glucose par litre de sang **1gr,902**.

Injection de 20 c. c. de sérum

II. — Vingt minutes plus tard prise de 14gr,2 de sang : glucose par litre : **3gr,045**.

Injection de 20 c. c. de sérum.

III. — Après un quart d'heure, prise de 14gr,35 de sang; glucose par litre : **3gr,748**.

Injection de 10 c. c. de sérum.

IV. — 25 minutes après, prise de 11gr,05 de sang; glucose par litre : **3gr,425**.

Injection de 20 c. c. de sérum.

V. — Après une heure, prise de 14gr,1 de sang; glucose par litre : **2gr,604**.

Le chien meurt subitement, sans avoir présenté ni agitation, ni dyspnée, ni aucun symptôme d'une excitation quelconque.

IV. — Nous ouvrons rapidement la poitrine et retirons du cœur droit 16gr,25 de sang; glucose par litre **2gr,984**.

Nous recueillons dans la vessie 8 c. c. d'urine claire. L'analyse donne **3gr,36** de glucose par litre d'urine.

Cette expérience nous donne donc absolument les mêmes résultats que les deux expériences précédentes. Dès la première

injection, l'hyperglycémie s'installe et se maintient jusquà la fin. La glycosurie n'a pas fait défaut non plus : nous avons donc bien provoqué par l'injection de sérum antiglycolytique, les deux symptômes les plus réels et les plus indiscutables du diabète.

EXPÉRIENCES ANNEXES

Nous consignons ici le résultat de deux expériences absolument confirmatives des expériences X, XI et XII. Mais les dosages de sucre n'ayant pu être faits immédiatement après la précipitation du sang et n'ayant été exécutés — par suite d'une circonstance spéciale — que deux mois après, nous avons de bonnes raisons pour croire que tous nos échantillons ont subi une perte notable de glucose. Cette perte, occasionnée fort probablement par le contact prolongé du glucose avec le nitrate et l'oxyde de mercure, fait que tous nos chiffres accusent un fort degré d'hypoglycémie. Ils n'en montrent pas moins cependant, tout comme les expériences précédentes, que l'effet de l'injection de sérum antiglycolytique a été d'élever notablement le taux du sang en glucose.

Nous ferons cependant observer au sujet de la petitesse de nos chiffres, que le sang de la veine jugulaire accuse quelquefois un degré net d'hypoglycémie. On en trouve la preuve dans des chiffres publiés par Lépine et Boulud (63); ainsi ces auteurs signalent dans la jugulaire d'un chien 0gr,62 et 0gr,54 de sucre. En outre, dans de nombreux dosages de sucre dans le sang provenant de la jugulaire, dosages exécutés pour d'autres expériences aussitôt après la précipitation du sang, nous avons aussi observé un taux de sucre très bas. (Nous avons trouvé notamment 0,822 — 0,750 — 0,565 — 0,514 — 0 68 — 0,69 grammes de glucose par litre.) Rien ne prouve par conséquent qu'on doive toujours trouver *dans la jugulaire* un taux de glucose voisin de 1gr,5 par litre : un grand nombre d'expériences nous portent au contraire à croire que ce taux est plus variable qu'on ne le pense généralement.

C'est ainsi que dans des dosages exécutés pendant la rédaction de ce travail, nous avons trouvé dans du sang pris simultanément à la jugulaire et à la carotide, 0gr,9325 0/00 dans le

sang jugulaire, et 1gr,231 0/00 dans le sang carotidien. Une prise faite plus tard chez le même animal, donne aussi 0gr,7 0/00 en plus dans le sang de la carotide. Cependant les expériences X et XII nous montrent le sang de la jugulaire contenant 2gr,07 et 1gr,902, alors que les chiffres cités plus haut nous montrent des échantillons de sang 2 et 3 fois moins riches en sucre. Contrairement donc à ce qui est généralement admis, la richesse du sang en sucre nous paraît très variable et très différente d'un endroit du corps à un autre : l'étude détaillée de ces variations et de ces différences, mériterait certes d'être attentivement reprise. [Voyez Lépine 54, p. 353 et Embden, Luthje et Liefmann (101) qui ont vu la quantité de glucose de sang varier avec la température.]

EXPÉRIENCE A.

Sérum de 2 lapins injectés à l'exsudat de chien. Les lapins ont reçu respectivement 15 et 8 injections.

Chien de 6 kilos.

I. — Prise de 13gr,05 de sang; glucose par litre : **0gr,564.**

Injection de 10 c. c. de sérum antiglycolytique.

II. — Un quart d'heure après, prise de 12gr,4 de sang; glucose par litre : **0gr,624.**

Injection de 10 c. c. de sérum antiglycolytique.

III. — Vingt minutes après, prise de 12gr,25 de sang; glucose par litre : **0gr,6.**

Après l'injection nous récoltons 25 c. c. d'urine. Cette urine, après défécation, ne donne aucune trace de réduction.

Nous voyons donc aussi dans cette expérience que dès, la première injection de sérum antiglycolytique, il y a eu une augmentation légère mais nette du taux du sucre dans le sang. Le taux hyperglycémique n'a cependant pas été atteint, car l'urine analysée au moment même de l'expérience a donné des réactions de glucose négatives.

EXPÉRIENCE B

Nous nous sommes servis dans cette expérience du même sérum que celui dont nous avons fait usage dans l'expérience VI. Les lapins avaient donc été injectés au moyen d'une petite quantité de sang, mais par contre, d'une grande quantité d'extrait pancréatique.

Chien de 5 kilos.

Prise de sang de 12gr,05; glucose par litre : **0gr,2282.**

Injection de 15 c. c. de sérum.

II. — Vingt minutes après, prise de 11gr,55 de sang; glucose par litre **0gr,7945.**

Injection de 10 c. c. de sérum.

III. — Un quart d'heure après, prise de 11gr,3 de sang; glucose par litre : **1gr,223.**

Injection de 30 c. c. de sérum (cela dans l'espace de 20 minutes).

IV. — Un quart d'heure après, prise de 12gr,3 de sang ; glucose par litre : **1gr,286.**

Injection de 10 c. c. de sérum.

V. — Un quart d'heure après, prise de 12gr,9 de sang : glucose par litre : **1gr,3975.**

Injection de 15 c. c. de sérum.

VI. — Un quart d'heure après, prise de 14,92 grammes de sang ; glucose par litre : **1gr,356.**

L'urine recueillie à la fin de l'expérience, donne **0gr,1665** de sucre par litre.

Cette expérience accuse donc dans le sang de la veine jugulaire un degré d'hypoglycémie manifeste, trop considérable pour être assimilée à l'hypoglycémie que l'on constate généralement dans ce vaisseau. Mais, comme tous les dosages de cette série ont été faits avec un strict parallélisme, les résultats erronés, peut-être au point de vue de la valeur absolue des chiffres, conservent leur valeur relative et peuvent être comparés. Ils montrent, comme les expériences X, XI, XII et A, que, dès la première injection de sérum, le taux du sang en sucre s'élève dans la proportion de 1 à 3, 5 environ ; en outre, on voit clairement que ce taux s'est maintenu et élevé même pendant la durée de l'expérience. La diminution du pouvoir glycolytique du sang a donc bien déterminé de l'hyperglycémie. Conformément à ce résultat, nous avons observé aussi un léger degré de glycosurie.

Notons que, dans cette expérience, nous avons fait usage d'un sérum à la fois antiglycolytique et antipancréatique. Nous publierons bientôt les résultats d'expériences, prouvant que le sérum antipancréatique seul suffit aussi pour arrêter la glycolyse, provoquer l'hyperglycémie, et amener une glycosurie particulièrement durable.

CONCLUSIONS

Voici les conclusions qui ressortent de nos expériences. Nous voyons tout d'abord concorder remarquablement les résultats obtenus *in vitro* avec les résultats de l'expérimentation dans l'organisme même. Le sérum antiglycolytique que nous avons préparé entrave nettement l'activité du ferment glycolytique dissous dans le sang extravasé ; injecté dans les veines, il provoque dès la première injection un degré d'hyperglycémie tel que la glycosurie s'ensuit. Comment cette action s'opère-t-elle ? Il est évident que l'augmentation du taux du sucre dans le sang des animaux injectés ne doit pas nécessairement être attribué à une

excitation du système nerveux, du foie, ou de quelque autre organe, puisque notre sérum exerçait aussi son action empêchante sur la glycolyse du sang *in vitro* L'hyperglycémie et la glycosurie observées peuvent s'expliquer selon nous, parfaitement par l'arrêt ou par la diminution de l'activité glycolytique : une telle interprétation conduit à dire que l'état glycémique peut être réglé par les éléments propres du sang, de la lymphe ou des humeurs sans que le système nerveux, le foie ou quelque autre organe doive *nécessairement* intervenir. Nous limitons à ces termes notre conclusion, sans prétendre cependant que ces organes n'interviennent jamais et ne puissent jouer même dans la glycémie un rôle important. Puisque la glycolyse n'a pas été complètement arrêtée *in vitro*, mais n'a subi qu'un ralentissement, nous pouvons dire, selon toute vraisemblance, que dans l'organisme une diminution de l'activité glycolytique suffit déjà à produire le diabète.

Nous avons provoqué dans ces expériences les deux principaux symptômes du diabète, par un moyen qui forçait manifestement l'organisme à réduire sa consommation en hydrates de carbone. La théorie de l'hyperproduction du glucose dans le diabète ne doit donc pas être admise de façon absolue. Nous la considérons même comme très peu fondée : nous avons déjà fait ressortir, dans notre premier mémoire (26), une série de faits qui ne plaident guère en sa faveur. En outre, par l'étude détaillée des chiffres et des expériences des auteurs, nous avons montré que les objections faites à la théorie de Lépine, concernant la diminution de la glycolyse dans le diabète, n'étaient pas fondées. La comparaison de la force glycolytique de sangs enrichis en sucre, avec celle de sangs diabétiques, montre en effet clairement que la glycolyse — dans ces derniers — est manifestement ralentie et diminuée.

Chez les animaux que nous avons rendus diabétiques par le sérum antiglycolytique, la glycolyse a-t-elle été fortement diminuée ou complètement abolie ? Il nous serait difficile de trancher cette question d'une façon certaine ; tout ce que nous pouvons dire, c'est que le sérum antiglycolytique s'est montré beaucoup plus actif *in vivo* qu'*in vitro*. En effet, *in vitro* le pouvoir antiglycolytique n'est pas parvenu — malgré une propor-

tion relativement plus forte de sérum — à s'opposer entièrement à la glycolyse : il y a en effet toujours eu destruction de sucre, même en présence de sérum antiglycolytique. *In vivo,* au contraire, tout se passe comme si la glycolyse était complètement abolie, puisqu'en 1/4 d'heure après injection d'une dizaine de c. c. de sérum, il n'y a pas eu seulement une légère augmentation du taux du glucose, mais bien une augmentation de 100 à 150 0/0.

Il est par conséquent bien possible de provoquer le diabète absolument en dehors de toute lésion organique, de toute lésion nerveuse : la théorie duodénale et nerveuse du diabète ne saurait donc être admise trop exclusivement, ainsi que le fait Pflüger.

Quels rapports y a-t-il entre les faits que nous venons de mettre en relief, et ceux qui découlent de la physiologie du pancréas ? C'est un sujet qui nous traiterons dans un prochain travail où il sera question de l'étude d'un sérum antipancréatique, et de son action sur la glycolyse et la glycémie.

Le pouvoir glycolytique du sang intervient donc dans une très large mesure dans la régulation de l'équilibre glycémique. Celle-ci peut jusqu'à un certain point s'opérer en dehors de l'action du système nerveux, du foie ou d'autres organes. Un trouble dans la fonction glycolytique du sang suffit à provoquer nettement, l'apparition des deux symptômes les plus pathognomoniques du diabète.

Nous ferons remarquer que nous ne voulons pas dire par là que le diabète sucré est *uniquement* dû à une diminution de la puissance glycolytique de nos humeurs. Car, en effet, cette diminution ne saurait expliquer la disparition presque totale du glycogène de tous les organes, la fonte des graisses dans l'organisme et leur accumulation dans le foie, ainsi que les troubles qui surviennent dans le métabolisme des substances albuminoïdes.

En terminant, nous prions M. le Dr Delezenne — qui nous a admis dans son laboratoire avec tant de bienveillance — de bien vouloir agréer l'expression de nos sentiments de vive gratitude pour les conseils nombreux et l'aide qu'il nous a prodigués au cours de ces expériences.

BIBLIOGRAPHIE

1. — PETTENKOFER et VOIT. Cité dans HÉDON (Article *Diabète* du *Dict. Richet*). *Cf. aussi Zeitschrift f. Biol.*, 1867.).

2. — EBSTEIN. *Die Zückerharnruhr, ihre Theorie u. Praxis*. Wiesbaden.
EBSTEIN et SCHWALBE. — *Handbuch. der Prakt. Mediz.* B. III, p. 660.

3. — BOUCHARD. *Maladies par ralentissement de la nutrition*, 1885. — La théorie pathogénique du diabète. *Sem. médic.*, 1898.

4. — JACCOUD. Cité dans Hédon.

5. — SEEGEN *a*). *La glycogénie animale*, trad. Hahn, 1890, *b*) uber Zucker im Harn bei Rohrzuckerfütterung (*Pflüger's Arch.* 1885). *c*) U. d. Zückergehalt des Bluttes d. Diabetikern (*Wien. med. Woch.*, 1886). *d*) *Der Diabetes mellitus*, 3e édition, Berlin, 1899.

6. — NAUNYN. Beitrage z. Lehre v. Diabetes (*Arch. f. exp. Path. u. Pharmac.*, 1874.)

7. — LAFON. *Rech. expér. sur le diabète et sur la glycogénie*. Thèse, Bordeaux, 1906.

8. — CL. BERNARD. *Leçons sur le Diabète*, 1877.

9. — PAVY. *Brit. med. Journal*, 1875. — *Physiology of the carbohydrates*, Londres, 1894. — *On Diabetes*, Londres, 1899.

10. — SCHIFF. *Unters. u. d. Zückerbildung in der Leber*. Würzbürg, 1859. — *Leçons sur la physiol. de la digestion*, 1868.

11. — BOCH et HOFFMANN. *Exp. Studien u. Diabetes*. Berlin, 1874.

12. — ECKARD. *Beitr. zur. Anat. u. Phys.*, 1867.

13. — CYON et ALADOFF. *Bullet. Ac. Imper.* S. Pétersb., 1872.

14. — KULZ. *Pflügers Archiv.*, 1880.

15. — KLEBS et MUNK. Cité dans Hédon (38).

16. — ARTHAUD et BUTTE. *C. R.*, 1889 et *Arch. de Phys.*, 1888.

17. — THIROLOIX. *Le diabète pancréatique*. Paris, 1892.

18. — LÉPINE. *Sem. médicale*, 1895, p. 383; *Revue de médecine*, 1896, p. 594-599.

19. — KOLISCH et BÜBER. *Wien. Klin. Woch.*, 1897, p. 553.

20. — MEHRING. *Zeitsch. f. klin. Mediz.*, 1888 et 1889.

21. — PRAUSNITZ. *Zeitsch. f. Biol.* 1892, p. 168, tome XXIX, et tome XXVII, p. 81.

22. — HEDON. *C. R. Biol.*, 1897.

23. — MINKOWSKI. *Berl. klin. Woch.*, 1892. *Arch. f. experim. Pathol., u. Pharm.*, 1893.

24. — CREMER. *Zeitsch. f. Biol.*, t. XXIX et XXVIII.

25. — G. ROQUE. Les glycosuries non diabétiques (*Actualités médicales*).

26. — DE MEYER. *Trav. Labor. Inst. Solvay*, Bruxelles, 1906. — *Ann. Soc. des Sciences médic. et nat.*, Bruxelles, 1906.

27. — FISCHER. *University of California Publications I*, 1904. — *Pflügers Archiv.* 1905.

28. — BROWN. *Americ. Journ. of Phys.*, 1904.

29. — UNDERHILL et CLOSSON. *Amer. Journ. of. Phys.*, 1906, p. 321.

30. — HUGH MC. GUIGAN et BROOKS. *Amer. Journ. of Phys.*, 1907.

31. — Sandmeyer. *Zeitschr. f. Biologie*, 1894.
32. — Pfluger. Article *Glycogène* (*Dict. Richet*, p. 467).
33. — Pal. *Wien. klin. Woch.*, 1891.
34. — Umber. *Zeitsch. f. klin. Mediz.*, 1900, B. 39.
35. — Gley. *C. R. Biol.*, 1891.
36. — Arthaud et Butte. *C. R. Biol.*, 1890.
37. — Martz. *Physiologie du foie*. Thèse Lyon, 1898.
38. — Hedon. *Trav. de Physiol.* Montpellier, 1898.
Cf. aussi l'article *Diabète : Dict. Physiol.* Richet.
39. — Lépine. *Lyon Médical*, 1890.
— *Berl. klin. Wochenschr.*, 1900, p. 346.
40. — Lépine et Boulud. *Lyon Médical*, t. XCVIII.
— — *C. R. Ac. Sc.*, 1902, p. 582.
41. — Léo. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1900.
42. — Chauveau et Kaufmann. *C. R. Biol.*, 1893. Mém., p. 17 et 29.
43. — Kaufmann. *a*) *C. R. Biol.*, 1894, p. 236 et 254; *b*) *Idem*, 1896, p. 302; *c*) *Archiv. de Physiol.*, 1895, t. VII.
44. — Montuori. *Riforma med.*, 1895, p. 220 et 230.
45. — Silvestri. *Riforma med.*, 1897, p. 397, 410, 423.
46. — Thiroloix. *C. R. Biol.*, 1895.
47. — Hirsch. *Beitr. z. chem. Phys. u Path.*, 1903.
48. — Pfluger. *Pflügers Archiv.* (T. XCVI, 1903). T. CXIX, 1907, p. 227, T. CXVIII, 1907, p. 267.
49. — Lauwens. *Pflüg. Archiv.*, 1907, B. CXX, p. 623.
50. — Ehrmann. *Idem*, 1907, B. CXIX, p. 295.
51. — Pfluger. *Idem*, 1907, B. 118, p. 267.
52. — Loewy. *Centralbl. f. Physiol.*, 1907, B. XXI, p. 704.
— *Münch. med. Woschenschr.*, 1907, p. 1411.
53. — Carnot. *Maladies des glandes salivaires et du pancréas. Diction. de Médecine* de Gilbert et Thoinot, 1908, p. 105.
54. — Lépine. *Volume Jubilaire de la Soc. de Biologie*, 1899.
55. — Lépine. *C. R. Ac. Sciences*. Paris, 1907, p. 1014 et p. 742.
— *C. R. Ac. Sciences*. Paris, 1903-1906 (Notes sur le sucre virtuel.)
— *Lyon Médical*, juin 1907.
— *Journ. de Phys. et de Path.*, 1906, p. 581.
56. — Duclaux. *Microbiologie*, II, 1899.
57. — Sieber. *Zeitschr. f. physiol. chemie*, 1903, p. 484.
58. — De Meyer. *Bull. de la Soc. des Sc. Médic. et Natur.*, Bruxelles 1904.
— *Travaux Inst. Solvay* (Physiologie), 1904.
59. — Bertrand. *Bulletin des Sc. Pharm.*, 1907, XIV.
60. — Pfluger. *Pflügers's Archiv.*, B. LXIX, 1898, p. 399.
61. — Wettendorf. *Trav. Labor. Inst. Solvay.* (Physiologie), 1901; T. 4. Bruxelles.
62. — Frerich. *Traité du Diabète*, 1885, Trad. franç. p. 263.
63. — Lépine et Boulud. *C. R. Ac. Sciences*, 1904, p. 610.
64. — Léo. *Wesen u. Ursache der Zuckerkrankheit*. Berlin, 1900.

65. — Von Noorden. *Die Zuckerkrankheit*, 3e édition, 1902, p. 55.
66. — Gilbert et Weil. *Sem. Médicale*, 1899, p. 385.
67. — Gilbert et Lereboullet. *Congrès intern. de Médecine*, 1900. *Section de thérapeutique*. p. 373.
Voyez aussi Gilbert et Carnot. *Ibidem*, 1900, p. 452.
68. — Hirschfeld. *Die Zuckerkrankheit*. Leipzig, 1902.
69. — Spitzer. *Deut. mediz. Wochenschrift*, 1900, nº 47.
70. — Lenhoff. Diabetes u. Umfall (*Arztliche sachverständige Zeitung*, 1900).
Voyez aussi Brehmer (*Ibidem*, 1895), et Ebstein, *Die ärztliche Praxis*, 1898,
71. — Lorand. Traitement rationnel du diabète. *Ann. de la Soc. des Sc. Médic. et Natur*. Bruxelles, 1902, t. X.)
72. — Lilienfeld. Zeitschr. f. phys. u. diäct. Therapie, 1899.
73. — Gans. Verh. des Congr. f. inn. Mediz., 1896. *Sem. Medic.*, 1896, p. 168.
74. — Lépine. Article *Glycolyse* du *Dict. de Physiol. Richet*, t. VII, 1906.
75. — Cohnheim. *Zeitschr. f. phys. Chemie*, 1906, B. XLVII.
76. — Lépine et Barral. *C. R. Ac. Sc.*, 121; 1895; p. 486.
77. — Pfluger. Uber den Duodenaldiabetes der Warmblüter. *Pflüg. Archiv.*, B. CXXII, 1908, p. 267.
78. — Minkowski. *Archiv. f. exp. Path. u. Pharmak.*, Bd LVIII, 1908, 271.
79. — Feinschmidt. *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, 1902.
80. — Jacoby. *Verh. der XVI Congress. f. innere Medizin.*, Wien, 1898. — *Virchow's Archiv.*, 1899.
81. — Portier. *Ann. Pasteur*, 1904, p. 635.
82. — Kaufmann. *C. R. Biologie*, 1894, p. 131.
83. — Lépine et Métroz. *C. R. Ac. Sciences*, 117, 1893, p. 154.
84. — Sansoni. *Riforma Medica*, 1891 et 1892.
85. — Spitzer. *Berl. klin. Woch.*, 1894, p. 949; *Pflüg. Archiv.*, t. LX et LXVII.
86. — Kraus. *Zeitsch. f. klin. Medizin.*, t. XXI, 1892.
87. — Seegen. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1895. *Centralbl. f. Physiol.*, 1892, V, et 1891, IV.
88. — Pavy. *Journal of Physiology*, 1902, t. XXVII.
89. — Gaglio. *Riforma Medica*, 1891.
90. — Colenbrander. *Labor. Utrecht*, IV, *Reeks* II et *Sem. Medic.*, 1892, p. 428.
91. — Lépine et Barral. *C. R. Ac. Sciences*, T. 110; 1890, p. 1314.
92. — Jacoby. *Archiv. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1890, B. XXVI, p. 380.
93. — Lépine et Barral. *C. R. Ac. Sciences*, T. 113; 1891, p. 118.
94. — Lépine et Barral. *C. R. Ac. Sciences*, T. 112; 1891, p. 604.
95. — Lépine et Barral. *C. R. Ac. Sciences*, T. 110; 1890, p. 742.
96. — Lépine et Martz. *Arch. intern. de Pharm. et de Thérap.*, 1899, T. VI.
97. — Kaufmann. *C. R. Ac. Sciences*, 1894.
98. — Kausch. *Archiv. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1897, t. XXIX, p. 219.

99. — Von Mehring et Minkowski. *Archiv. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1890, B. XXVI.

100. — Luthje. *Münch. Mediz. Wochenschr.*, 1903, p. 1537; 1902, p. 1601.
— *Deut. Arch. f. klin. Med.*, Bd LXXIX et LXXX, 1904 et 1905.
— *Pflüg. Archiv.*, T. CVI, 1905, p. 160.

101. — Embden, Luthje, Liefmann. *Hofmeister's Beiträge*, 1907, B. X, p. 265.

102. — Lesné et Dreyfus. *C. R. Biologie*, 1906, p. 1140.

103. — Marcuse. *Pflüg. Archiv.*, 1894, p. 539.

Prophylaxie de la peste à Rio-de-Janeiro

PAR FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS

Travail du laboratoire de M. Oswaldo Cruz à l'Institut de Manguinhos.

La peste s'est montrée au Brésil pour la première fois en 1899. Elle a fait son apparition dans le port de Santos d'où elle a ensuite gagné Sâo-Paulo et Rio-de-Janeiro.

Dès la notification des premiers cas à Santos, on prit des mesures rigoureuses pour empêcher le fléau d'entrer dans la capitale brésilienne. Mais tous les efforts furent vains. Le 7 janvier 1900, un cas était signalé dans la partie la plus ancienne de la ville, *La deira do Vallongo nº* 3, rue située dans un des quartiers les plus sales, sur le versant d'une colline. Dans cette rue, les maisons sont en très mauvais état et habitées par une population d'indigents. Aussi, la peste y prit-elle une extension rapide, sans qu'il ait été possible d'entraver son développement d'une façon sérieuse.

Après vérification bactériologique, le diagnostic de peste étant certain, on désinfecta la maison du haut en bas; les meubles, les vêtements et la literie furent brûlés. Les habitants de la maison et ceux des maisons voisines furent isolés. Quelques-uns d'entre eux reçurent une injection préventive de sérum. Trois jours plus tard, un nouveau cas éclatait dans le même quartier. Les mêmes précautions furent prises et trois mois se passèrent sans qu'un cas nouveau fût signalé.

On se croyait débarrassé du fléau quand, en avril, on eut connaissance d'un nouveau malade. A partir de ce moment, les cas se succédèrent rapidement. En juin, l'épidémie battait son plein. On constatait à ce moment l'existence d'une vaste épizootie sévissant sur les rats dans toute la ville.

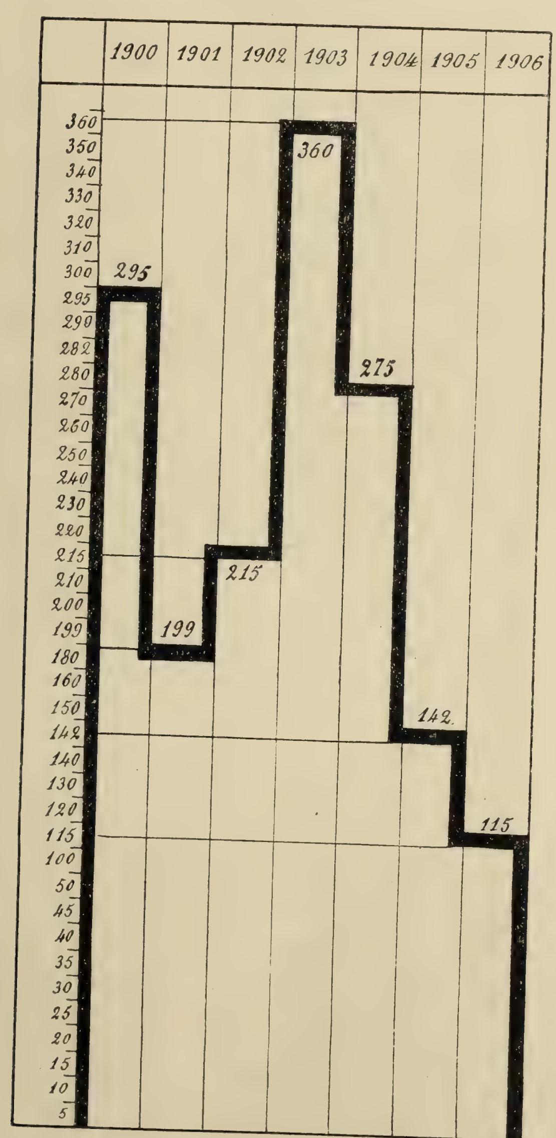
Depuis cette époque, la peste a pris une allure tout à fait saisonnière. A l'exception de 1900, où l'épidémie atteignit son apogée en juin, c'est en octobre et novembre que la maladie a toujours fait le plus de victimes. Elle diminuait ensuite graduellement jusqu'en mai, pour repartir en juin et suivre sa marche ascendante accoutumée.

NOMBRE DES CAS DE MALADIE ET DE MORT CAUSÉS PAR LA PESTE DANS LA VILLE DE RIO-DE-JANEIRO DE 1900 A 1906.

ANNÉES	1900.		1901.		1902.		1903.		1904.		1905.		1906.		Total.	
MOIS	Cas.	Décès.	Cas.	Décès.	Cas.	Décès.	Cas.	Décès.	Cas.	Décès	Cas.	Décès.	Cas	Décès.	Cas.	Décès
Janvier	—	—	13	9	39	36	30	16	39	29	64	29	24	12	209	131
Février	—	1	8	4	11	2	11	7	20	10	22	11	8	5	80	40
Mars	—	—	—	1	3	—	9	6	8	4	3	2	10	4	33	17
Avril	—	2	—	—	3	1	5	3	10	5	3	3	1	1	22	15
Mai	51	15	—	—	2	—	12	5	1	—	1	—	2	1	69	21
Juin	137	78	—	—	1	—	13	5	7	4	4	3	5	2	167	92
Juillet	129	76	27	9	8	—	21	7	19	8	6	2	8	2	218	104
Août	88	50	20	14	24	7	64	23	37	16	21	9	10	6	264	125
Septembre	27	19	82	24	67	33	111	50	102	30	38	22	26	10	453	188
Octobre	32	21	91	61	114	51	207	87	151	63	45	14	47	18	687	315
Novembre	26	21	89	47	92	43	210	99	141	54	63	33	49	24	670	321
Décembre	23	12	54	30	97	42	99	52	137	59	26	14	51	30	487	239
Totaux	513	295	384	199	461	215	792	360	672	275	296	142	241	115	3.359	1.608

De 1900 à 1906 il y a eu à Rio-de-Janeiro 3,359 cas de peste dont 1.608 furent suivis de mort. (Voir le tableau précédent.)

Le graphique ci-joint indique la mortalité par suite de peste et ses variations annuelles.



N° 1. — Mortalité par cause de peste à Rio-de-Janeiro, 1900 à 1906.

A Rio-de-Janeiro, comme ailleurs, il y eut des cas ignorés. Soit par erreur de diagnostic, soit par négligence des médecins traitants, tous les cas ne sont pas encore signalés aux autorités sanitaires ou le sont si tardivement, que la direction de la Santé est un peu désarmée. Aussi, la lutte contre la peste n'a-t-elle pas eu un succès aussi brillant que la lutte contre la fièvre jaune.

L'isolement des malades, toujours si important, est prescrit rigoureusement. Les deux hôpitaux qui sont affectés à ce service sont malheureusement peu propres à l'assurer convenablement. Dans son plan de réorganisation, la

MORBIDITÉ ET MORTALITÉ A L'HOPITAL DE PAULA-CANDIDO, 1900 A 1905

HOPITAL PAULA-CANDIDO		JAN.	FÉV.	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUILL.	AOUT	SEPT.	OCT.	NOV.	DÉC.	TOTAL
1900.	Existants	—	—	—	—	6	46	102	95	75	33	25	17	389
	Entrés	—	1	—	9	53	141	112	73	27	29	20	22	487
	Morts { après — de 24 heures de séjour	—	—	—	—	6	19	10	13	2	5	4	5	64
	Morts { après + de — —	—	1	—	2	6	36	37	17	13	10	11	5	138
	Guéris	—	—	—	1	1	30	72	73	44	22	13	16	272
	Passés au mois suivant	—	—	—	6	46	102	95	65	33	25	17	13	402
1901.	Existants	13	12	1	—	—	1	2	14	20	54	54	46	217
	Entrés	11	5	—	—	1	2	24	29	72	84	70	53	351
	Morts { après — de 24 heures de séjour	1	—	—	—	—	—	3	2	9	10	5	4	34
	Morts { après + de — —	4	4	1	—	—	—	6	12	14	22	23	13	99
	Guéris	7	12	—	—	—	1	3	9	15	52	50	30	179
	Passés au mois suivant	12	1	—	—	1	2	14	20	54	54	46	52	256
1902.	Existants	52	22	9	1	—	—	1	—	—	17	61	49	212
	Entrés	28	9	2	3	—	1	—	—	23	90	73	70	299
	Morts { après — de 24 heures de séjour	4	—	—	—	—	—	—	—	2	12	9	14	41
	Morts { après + de — —	21	1	—	1	—	—	—	—	4	13	17	11	68
	Guéris	33	21	10	3	—	—	—	—	—	21	59	[illegible]	200
	Passés au mois suivant	22	9	1	—	—	1	1	—	17	61	49	42	202
1903.	Existants	42	22	10	2	2	4	6	14	42	69	107	125	445
	Entrés	27	8	8	4	8	11	16	55	91	164	171	51	614
	Morts { après — de 24 heures de séjour	3	1	2	—	—	4	—	5	11	17	20	3	66
	Morts { après + de — —	6	3	3	3	3	—	1	10	14	28	29	24	124
	Guéris	38	16	11	1	3	5	7	12	39	81	104	100	417
	Passés au mois suivant	22	10	2	2	4	6	14	42	69	107	125	49	452
1904.	Existants	49	27	16	3	2	2	3	13	19	63	118	98	413
	Entrés	29	18	8	8	1	6	20	27	89	146	125	112	589
	Morts { après — de 24 heures de séjour	7	2	—	—	—	—	3	4	12	12	8	12	60
	Morts { après + de — —	4	5	2	3	—	2	2	3	6	26	25	25	103
	Guéris	40	22	19	6	1	3	5	14	27	53	112	99	401
	Passés au mois suivant	27	16	3	2	2	3	13	19	63	118	98	74	438
1905.	Existants	74	47	25	6	1	1	—	—	—	—	—	—	154
	Entrés	58	20	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	81
	Morts { après — de 24 heures de séjour	5	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
	Morts { après + de — —	16	8	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25
	Guéris	64	34	20	5	—	1	—	—	—	—	—	—	124
	Passés au mois suivant	47	25	6	1	1	—	—	—	—	—	—	—	80

direction de la Santé publique a prévu leur remplacement.

De 1900 à 1905 les pesteux étaient envoyés à l'hôpital de Paula-Candido, situé dans une anse de la baie de Rio, où ils étaient suffisamment isolés pour qu'aucun risque de contagion ne fût à craindre. Depuis 1905, ils ont été hospitalisés à São-Sebastião.

Dès le premier cas de peste, tous les malades ont été traités par le sérum antipesteux. Au commencement, le remède provenait de l'Institut Pasteur de Paris. A partir de 1901, le sérum employé a été fourni par l'Institut de Manguinhos. Les premières injections ont été faites sous la peau. Après le travail de Calmette et Salimbeni sur la peste à Porto, on abandonna la voie sous-cutanée pour la voie intraveineuse. La pratique a démontré les avantages de cette nouvelle méthode d'application du traitement spécifique. Elle a fait baisser constamment le taux de la mortalité, surtout quand on n'a pas craint d'injecter de fortes doses, 60, 80, 100 c. c. en une seule fois et de répéter ces injections suivant l'état du malade.

Il y a cependant des individus chez lesquels il est difficile, sans pratiquer la phlébotomie, de pénétrer dans un vaisseau : les enfants, les nègres, les personnes très grasses. Il est préférable, dans ces conditions, d'injecter le sérum dans le péritoine plutôt que sous la peau. Nous nous sommes bien trouvés d'avoir agi de la sorte. Par la simple lecture des résultats obtenus à

ANNÉES	Pourcentages de la mortalité.		ANNÉES	Pourcentages de la mortalité.	
	Bruts.	* Réels.		Bruts.	* Réels.
1900....	42.61	33.65	1903....	31.30	22.92
1901....	42.62	35.61	1904....	28.89	20.43
1902....	35.27	25.37	1905....	20.00	16.77

* Sont distraits les décès survenus après moins de 24 heures.

Paula-Candido, on pourra s'en convaincre (voir le tableau précédent). Le Dr Tavares de Macedo, dans son rapport de 1903, s'exprime en ces termes : « La statistique générale de l'hôpital Paula-Candido comporte 190 décès de peste, ou approximativement 31 0/0, y compris les cas où la mort est survenue moins de 24 heures après l'entrée du malade. En faisant abstraction de ces

cas, entrés à la période préagonique, le pourcentage descend à 22 0/0, résultat réellement assez bon si on le compare à beaucoup de statistiques étrangères. Si ce résultat fait ressortir les avantages de la sérothérapie antipesteuse, il est aussi tout en faveur du sérum que nous fournit l'Institut de Manguinhos. La valeur de ce sérum a d'ailleurs été déjà appréciée par beaucoup de savants étrangers, parmi lesquels Kolle et Otto, de l'Institut de Berlin. »

Le nombre des cas de peste ayant considérablement diminué depuis 1905, l'isolement des malades fut fait à l'hôpital de São-Sebastião où il n'allait presque plus de malades de fièvre jaune.

Voici les mouvements de cet hôpital de 1905 à 1906.

MORBIDITÉ ET MORTALITÉ A L'HOPITAL SÃO-SEBASTIAO, 1905-1906.

HOPITAL S.-SEBASTIÃO.		JANV.	FÉVR.	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUIL.	AOUT	SEPT.	OCT.	NOV.	DÉC.	TOTAL.
1905	Existants	—	—	—	—	1	—		2	8	7	12	24	54
	Entrés	1	—	-	3	1	3	6	19	29	42	54	27	185
	Morts : après — de 24 heures de séjour	—	—	—	2	—	—	1	4	10	7	9	5	38
	Morts : après + de — —	—	—	-		—	—		5	5	2	13	5	30
	Guéris	1	-	—	—	2	3	3	4	15	28	20	32	108
	Passés au mois suivant	—	—		1	—	—	2	8	7	12	24	5	59
1906.	Existants	5	6	4	4	1	1	4	4	1	15	18	18	81
	Entrés	21	9	8	2	1	3	8	6	27	37	53	54	229
	Morts : après — de 24 heures de séjour	4	2	2	—	—	1	1	2	2	7	7	7	34
	Morts : après + de — —	6	1	1	—	—	—	1	2	5	14	10	14	54
	Guéris	10	8	5	5	1	—	6	5	6	13	36	32	127
	Passés au mois suivant	6	4	4	1	1	4	4	1	15	18	18	19	95

Malheureusement, le taux de la mortalité dans cet établissement ne s'est pas maintenu, pour 1906, au niveau de ce qu'il était les années précédentes. Il est vrai que cette épidémie a fourni des cas exceptionnellement graves. Mais il est permis de penser que les résultats eussent été meilleurs si on avait employé, comme à l'hôpital Paula-Candido, le sérum *larga manu* et à doses répétées.

En outre de l'isolement des malades dans des hôpitaux spéciaux, la direction de la Santé s'est attachée à la désinfection systématique des maisons où se sont montrés des cas de peste et de celles où s'est manifestée une épizootie sur les rats. Ces mesures ont été complétées par l'isolement des personnes qui ont été en contact avec les malades et leur mise en observation.

Malgré toutes les précautions prises, la peste a suivi une marche constamment ascendante jusqu'en 1903. C'est ainsi qu'en 1900 on a enregistré 513 cas et 295 décès; en 1901, 384 cas et 199 décès; en 1902, 461 cas et 215 décès; en 1903, 792 cas et 360 décès. Par le nombre des décès survenus dans

ANNÉES	POURCENTAGES DE LA MORTALITÉ	
	Bruts.	* Réels.
1905	37.77	21.12
1906	40.93	29.83

* Sont distraits les décès survenus après moins de 24 heures.

cette dernière année (1903), on voit que l'infection de la ville était assez intense (voir graphique n° 2). On trouvait des rats morts dans presque tous les quartiers. Ce fut dans ces conditions que le Dr Oswaldo Cruz, directeur de l'Institut de Manguinhos, assuma la tâche difficile de lutter contre la maladie, comme directeur de la Santé publique. Il entreprit de suite, contre les deux fléaux qui ravageaient la capitale, la fièvre jaune et la peste, une énergique campagne dont les effets se firent rapidement sentir.

En ce qui concerne la peste, voici les mesures qui ont été prises.

Dès qu'un cas était signalé, la personne suspecte était immédiatement transportée dans un hôpital d'isolement, où le diagnostic bactériologique était fait et le malade mis en observation ou en traitement. Les membres de la famille et les autres locataires de la maison étaient soumis à la séro-vaccination ainsi pratiquée : A 3 c. c. de sérum antipesteux on mélangeait une dose de vaccin variable suivant l'âge et l'état de santé du patient. Pour préparer le vaccin, on employait la méthode de la commission allemande, microbes tués par la chaleur et émulsionnés dans l'eau physiologique.

Après l'enlèvement du malade, on lavait la maison du haut en bas avec une solution de lysol à 5 0/0, en frottant les parquets à la brosse. On plongeait les vêtements et la literie du malade dans une solution de sublimé à 1 0/00 ou de lysol à 5 0/0, puis on les enfermait dans des sacs spéciaux pour les

envoyer à l'étuve. Les meubles, tableaux et autres ustensiles étaient largement lavés avec des solutions de lysol, de sublimé ou d'aldéhyde formique, en choisissant pour chacun le liquide qui risquait le moins de le détériorer. Les objets en métal étaient flambés au chalumeau.

Tout ce qui ne pouvait pas être soumis à un de ces procédés de désinfection était suspendu dans la chambre du malade, qu'on transformait en une véritable étuve à formol en fermant exactement toutes les issues et en y envoyant le gaz à l'aide d'un appareil de Hotton.

Les parquets des maisons voisines étaient soumis au brossage antiseptique. Puis rapidement le même traitement était étendu à tout le quartier.

Dans chaque maison, à tous les étages, on soulevait les parquets pour retirer les rats morts par-dessous, et on procédait à la désinfection du sol ou du hourdis, si la maison avait plusieurs étages, avec une solution de lysol à 5 0/0 portée à 90° et projetée à l'aide du pulvérisateur à vapeur de Geneste et Herscher. Il faut ajouter qu'on ne se bornait pas à une simple pulvérisation, mais qu'on lançait le liquide antiseptique en jet pour bien mouiller toute l'épaisseur.

Pendant 15 jours, tous les habitants d'une maison infectée et ceux des maisons voisines restaient en surveillance sanitaire.

Les propriétaires recevaient l'ordre d'avoir à faire les réparations nécessaires et surtout de procéder à l'imperméabilisation du sol. Toutes les maisons du quartier infecté étaient soumises aux mêmes mesures.

L'imperméabilisation du sol est obtenue à l'aide de béton de ciment recouvert d'un carrelage de céramique, qui doit aussi être appliqué le long des murs jusqu'à 20 centimètres au moins au-dessus du sol. On permettait également de remplacer les carreaux par de l'asphalte.

La chasse aux rats est confiée à une brigade d'agents sanitaires auxquels l'administration verse 200 reis, c'est-à-dire 40 centimes par animal présenté. De septembre 1903 à décembre 1906, on a brûlé au dépôt de désinfection 1,120,963 rats.

NOMBRE DE RATS BRULÉS AU DÉPOT DE DÉSINFECTION

1905-1906.

	1903.	1904.	1905.	1906.
Janvier...........	—	11.040	25.663	44.433
Février...........	—	10.473	21.722	53.619
Mars.............	—	13.285	23.626	23.741
Avril....	—	11.940	27.642	23.955
Mai..............	—	16.211	44.713	24.169
Juin..............	—	20.248	23.773	35.890
Juillet...........	—	68.813	29 078	38.190
Août.............	—	34.645	32.281	38.894
Septembre........	1.454	31.382	36.349	40 568
Octobre..........	7.546	31.422	36.193	41.426
Novembre........	6.104	23.718	36.740	37.083
Décembre.......	9.337	22.736	32.232	28.629
	24.441	295.913	370.012	430.597

Le personnel employé à la chasse aux rats est immunisé tous les 6 mois, à l'aide du vaccin antipesteux préparé comme il a été dit plus haut. Jusqu'à ce jour la peste n'a pas fait une seule victime parmi ces hommes qui, cependant, manient constamment des rats pesteux.

On le voit, la direction de la Santé a pris toutes les mesures conseillées par l'expérience. Chacune, isolément, aurait été insuffisante, mais, prises conjointement, elles ont produit le meilleur résultat.

En résumé on a procédé à l'isolement des malades, à l'immunisation des personnes qui vivaient à leur contact, à la désinfection rigoureuse des maisons infectées, à l'extraction des rats morts, à l'imperméabilisation des rez-de-chaussée et à la chasse systématique des rongeurs.

L'isolement des malades ne se discute pas.

Le sérum antipesteux, par l'immunisation immédiate qu'il confère durant 12 jours, permet de procéder à la vaccination par bacilles tués, quelquefois périlleuse quand il n'existe pas une immunité préalable, comme l'ont montré Calmette et Salimbeni à Porto. Le vaccin donne une immunité active qui dure 6 mois.

La désinfection est essentielle quand il s'agit de combattre la peste, notre expérience nous l'a montré. Le lavage antiseptique tue les insectes qui véhiculent le virus et débarrasse des germes qui ont pu être répandus, soit par les malades, soit par les rats. L'extension des mesures à tout le quartier est indispensable, car on ne sait où s'arrête l'infection.

Le soulèvement des parquets pour retirer les rats morts et désinfecter l'entrevous est une mesure indispensable sans laquelle il est impossible d'éteindre un foyer de peste. On évite ainsi l'infection des nouvelles générations de rongeurs qui viendront occuper le domicile. Mais il convient d'appliquer la mesure à tous les étages. Il peut arriver qu'on ne trouve pas de cadavres de rats dans la maison où s'est produit un cas de peste, tandis qu'on en rencontre, 2 ou 3 maisons plus loin, dans des habitations apparemment indemnes. Ce fait, souvent observé, indique bien qu'il ne faut pas borner la visite domiciliaire à la maison du malade, mais l'étendre à tout le quartier. En agissant de la sorte, on est presque sûr d'empêcher le retour de la peste. Pour prouver notre affirmation, il nous suffira de citer un certain nombre de maisons dans lesquelles nous n'avons vu survenir aucun autre cas en les traitant par cette méthode.

Cependant il s'agissait de demeures bien infectées. Le relevé ci-dessous l'indiquera suffisamment.

De la maison sise	rue des Carmes, 43, on a retiré	68	rats morts.
—	— Moura, 9 —	29	—
—	— du Maréchal Floriano, 114,	130	—
—	— da Quitanda, 12 —	11	—
—	— S. Clemente, 29 —	10	—
—	— Vic. de Sapucahy, 75	54	—
—	Place de la République, 117	54	—

Nous pourrions citer beaucoup d'autres locaux aussi bien pourvus et cependant réhabités sans inconvénients après notre passage. Malheureusement, il n'y a rien de parfait, surtout en matière de désinfection. Dans l'ensemble des opérations il

s'ouvre quelquefois des failles, dont la production est indépendante de la meilleure volonté et tient à des difficultés imprévues.

Dans la majorité des cas, pourtant, le succès est au bout de la peine. Notre longue expérience à Rio-de-Janeiro nous l'a appris.

Le choix du désinfectant est des plus importants. Il doit en même temps détruire la vermine et tuer les germes. Nous employions au début l'acide phénique brut, qui répond à ces deux desiderata. Mais, à la dose de 5 0/0, les solutions en sont caustiques et nous avons dû l'abandonner à la suite d'accidents survenus, tant chez nos agents que parmi les habitants des maisons désinfectées. Nous lui avons substitué le lysol dont les solutions de même titre ne sont pas dangereuses et présentent les mêmes avantages que l'acide phénique.

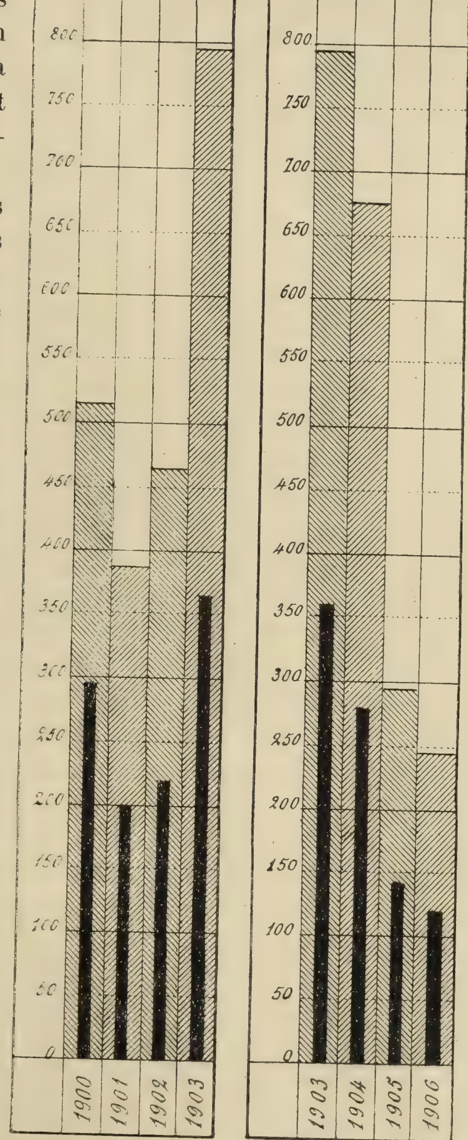


Fig. 2.

Cas de peste et décès. 1900 à 1903. Cas de peste et décès 1903 à 1906.

L'imperméabilisation du sol est la plus importante des mesures qui complètent la désinfection. Elle empêche le retour des rats. Malheureusement elle est impraticable aux

étages[1] et les rongeurs en profitent. C'est ainsi que dans des maisons neuves à rez-de-chaussée imperméabilisé, se sont produit des cas de peste et nous avons trouvé des cadavres de rats entre les planchers et les plafonds. C'est là une des raisons qui nous désarment et qui permettent le retour de la peste dans des maisons où nous avons cependant introduit de notables améliorations.

La chasse aux rats est conseillée partout et avec raison car, en diminuant le nombre des vecteurs de germes, on restreint la marche de la maladie.

L'administration sanitaire a appliqué l'appareil Clayton à la destruction de ces animaux dans les égoûts.

Elle dispose, pour cette opération, de 4 appareils montés sur roues, qui fonctionnent journellement. Le gaz sulfureux est introduit dans une partie du réseau qui est limitée à chaque extrémité par un obturateur en bois recouvert d'étoffe. L'emploi du gaz Clayton sert à deux fins : il détruit les rats et tue les moustiques. Nous croyons que c'est là une utilisation nouvelle de ce mode de désinfection qui jusqu'à ce jour n'avait été employé que dans des bâtiments ou des navires. Le résultat a été des meilleurs, si nous en jugeons par la grande quantité de rats retirés des galeries et par la disparition des moustiques qu'on y trouvait auparavant, toujours en très grand nombre. Pour vérifier l'efficacité de ce procédé, nous avons fréquemment disposé des rats et des moustiques dans des cages disséminées sur divers points du réseau traité et nous avons toujours trouvé tous les animaux morts à la fin de l'opération.

Pour le service de la rade, la direction de la Santé possède une barque sur laquelle sont montés 2 appareils Clayton du type B et où se trouvent aussi une étuve à vapeur, une chambre à formolisation et une autre à désinfection par le gaz sulfureux. Cette barque sert à la désinfection des navires qui viennent de ports infectés ou qui partent de Rio-de-Janeiro pour une autre ville brésilienne. Nous n'avons qu'à nous louer des résultats obtenus. Aucun cas de peste n'a été constaté à bord des bateaux qui font le cabotage.

L'examen du graphique figure 2 suffira à montrer les avantages retirés de l'application de toutes ces mesures. Depuis

1. A Marseille et dans toute la Provence le sol de tous les étages est recouvert en céramique. C'est peut-être à cette précaution qu'on doit d'y avoir évité le retour des grandes épidémies de peste. (*Note de la Rédaction.*)

1903 la peste n'a fait que diminuer. Nous espérons que les efforts du directeur de la Santé publique et de ses auxiliaires seront prochainement couronnés de succès et que nous pourrons enfin rayer la peste du cadre nosologique de Rio-de-Janeiro.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNEE NOVEMBRE 1908. N° 11

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Contribution à l'étude de Trypanosoma congolense

PAR M. A. LAVERAN

En 1904, A. Broden a appelé l'attention sur un trypanosome qu'il avait trouvé chez un âne et chez des moutons provenant du poste de Galiema (État indépendant du Congo). Broden a pensé que ce trypanosome, remarquable par ses petites dimensions et par l'absence d'une partie libre du flagelle, appartenait à une espèce nouvelle qu'il a désignée sous le nom de *Tr. congolense* (1).

Ultérieurement, Broden a retrouvé ce trypanosome chez des bovidés et chez des dromadaires de l'État indépendant du Congo, et il a fait ressortir les analogies existant entre *Tr. congolense* et *Tr. dimorphon*, sans conclure toutefois à l'identité de ces parasites (2).

Rodhain, qui a donné une description du petit trypanosome du Congo, constate que l'absence de partie libre du flagelle rapproche ce trypanosome de *Tr. dimorphon* (3).

Dutton, Todd et Kinghorn, qui ont étudié dans l'État indépendant du Congo la trypanosomiase produite par *Tr. congolense*, signalent les analogies de ce trypanosome avec *Tr. dimor-*

(1) A. BRODEN, Les infections à trypanosomes au Congo. *Bulletin de la Société d'études coloniales*, Bruxelles, février 1904.

(2) A. BRODEN, *Rapport sur les travaux du Laboratoire médical de Léopoldville de 1900 à 1905*, Bruxelles, 1906, p. 178. — A. BRODEN, Trypanosomiases animales au Congo, *Bulletin Acad. R. de Belgique*, t. XX, 1906, p. 387.

(3) RODHAIN, Trypanosomiases humaines et animales dans l'Ubangi, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, t. XI, mai 1907, p. 297. Voyez aussi MEULEMAN, Rapport sur les maladies tropicales des animaux domestiques, *Publication de l'État indép. du Congo*, Bruxelles, 1907, et F. HÖHNEL, Ueber *Trypanosoma congolense*, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, cahier supplém., 3 juin 1908.

phon; mais ils ne citent aucune expérience permettant de conclure soit à l'identité, soit à la non-identité des deux parasites (1).

G. Martin, Lebœuf et Roubaud disent avoir rencontré souvent au Congo français des infections dues au *Tr. congolense* chez des bœufs, des moutons, des chèvres et des chiens (2).

A la fin du mois d'octobre 1906, le Dr Broden a bien voulu m'envoyer un cobaye qui avait été inoculé avec *Tr. congolense;* c'est ainsi que j'ai pu étudier ce trypanosome que j'ai conservé au moyen de passages par cobayes.

I. Description du **Trypanosoma congolense**.

Dans le sang frais, le trypanosome a des mouvements très vifs, mais il se déplace peu dans le champ du microscope. On distingue parfois, dans le protoplasme, des granulations très réfringentes.

Les trypanosomes s'agglutinent souvent autour des leucocytes auxquels ils adhèrent par leur extrémité antérieure (fig. I).



Figure I. 1, un leucocyte polynucléaire auquel adhèrent 7 trypanosomes qui sont fixés par leur extrémité antérieure. — 2, 3, 4, 5 différents aspects de *Tr. congolense* à l'état libre. — *a*, *a'*, hématies nucléées. — Sang de rat fixé et coloré. Gross. 1400 D environ.

Sur les préparations de sang desséché, fixé et coloré par mon procédé ou à l'aide de la solution de Giemsa, on distingue les particularités suivantes.

(1) J.-E. Dutton, J.-L. Todd et A. Kinghorn, Cattle trypanosomiasis in the Congo free State, *Annals of trop. med. a. parasitology*, juin 1907, t. I, nº 2.

(2) G. Martin, Lebœuf et Roubaud, les trypanosomiases animales au Congo français, *Société de pathologie exotique*, 10 juin 1908.

Les trypanosomes sont petits, ils mesurent en général de 10 à 13 μ de long, sur 1 à 2 μ de large; les plus grandes formes atteignent 15 à 17 μ de long.

Le corps est moins flexueux que ne l'est celui des trypanosomes en général (Fig. II, 1, 2, 3, 4, 5).

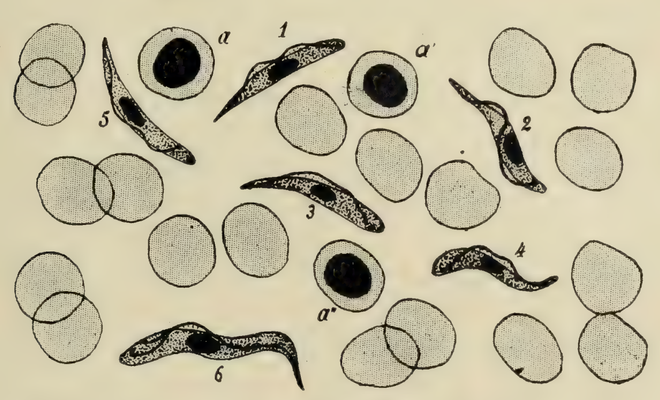


Figure II. 1, 2, 3, 4, 5 différents aspects de *Tr. congolense* dans du sang de rat. — 6, un trypanosome en voie de division. — *a*, *a'*, *a"* hématies nucléées. Gross. 1400 D environ.

L'extrémité postérieure est conique, peu effilée, l'extrémité antérieure est effilée, sans flagelle libre, le protoplasme se prolongeant jusqu'à l'extrémité du flagelle.

Vers la partie moyenne du corps, on distingue un noyau ovalaire, bien circonscrit, qui se colore fortement.

Le centrosome, très apparent, est situé près de l'extrémité postérieure; il est en général accolé à la paroi du trypanosome comme l'a fait remarquer Broden.

Du centrosome part le flagelle qui borde la membrane ondulante et qui aboutit à l'extrémité antérieure, sans présenter de partie libre.

La membrane ondulante est étroite et peu plissée; elle ne montre en général que deux ondulations.

Le protoplasme se colore peu; il ne renferme pas d'ordinaire de granulations chromatiques.

La multiplication se fait par bipartition. Les formes, en voie de division, sont un peu plus longues et plus larges que les formes normales. Le centrosome se divise en général le premier. Le flagelle se divise ensuite à sa base (6, fig. II), puis

dans toute sa longueur; la bipartition s'achève par la division du noyau et du protoplasme.

Dans le sang d'un rat fortement infecté de *Tr. congolense* j'ai trouvé de nombreuses hématies nucléées (fig. I et II, *a'*, *a'*, *a''*).

II. Evolution de l'infection produite par **Tr. congolense** chez différents Mammifères.

L'infection naturelle par *Tr. congolense* a été observée principalement chez des Bovidés, mais d'autres animaux domestiques peuvent en être atteints : Dromadaires, Équidés, Ovinés, chien.

La plupart des Mammifères s'infectent quand on les inocule avec du sang contenant des *Tr. congolense*. J'ai étudié la marche de l'infection chez la souris, le rat, le cobaye, le chien, chez un *Macacus rhesus*, enfin chez la chèvre.

1° *Evolution chez la souris*. — Toutes les expériences ont été faites sur des souris blanches.

Sur 16 souris, la durée moyenne de l'infection terminée par la mort a été de 83 jours, mais les écarts au-dessous et au-dessus de ce chiffre ont été nombreux et très grands. A côté de minimums de 18, 20 et 33 jours, on trouve des maximums de 331, 183 et 176 jours. Il arrive souvent que de deux souris inoculées le même jour, avec le même virus et dans des conditions qui paraissent identiques, l'une succombe rapidement, tandis que l'autre a une infection à marche lente, sans qu'on puisse s'expliquer les causes de cette différence.

Les observations des souris 1 et 2 et des souris 3 et 4 sont des exemples de ces variations dans la durée de la maladie chez des souris inoculées dans les mêmes conditions.

Souris 1. — Inoculée le 3 novembre 1906 sur cobaye. — 7 et 9 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 10 novembre, trypan. très rares. — 15, 17 et 19 novembre, trypan. rares. — 22 novembre, examen négatif. — 25 et 28, trypan. non rares. — 1er décembre, trypan. assez nombreux. — 4, 7, 10 et 13 décembre, trypan. nombreux. La souris meurt le 14 décembre; elle pèse 22 gr. La rate, très volumineuse, pèse 12 gr. Durée : 41 jours.

Souris 2. — Inoculée le 3 novembre 1906 sur cobaye. La souris est inoculée de la même manière que la souris 1, l'évolution de la trypanosomiase est cependant beaucoup plus lente chez elle que chez la souris 1. Du 7 au 13 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 15 novembre, trypan.

rares. — 17, trypan. non rares. — 19 et 22, trypan. nombreux. — 25, assez nombreux. — 28, rares. — 1er et 4 décembre, non rares. — 7, rares. — 10 au 25 décembre, non rares. La rate est énorme, facile à limiter par la palpation. — 28 et 31 décembre, trypan. nombreux. — 3 et 6 janvier 1907, trypan. non rares. — Du 9 au 31 janvier, tous les examens du sang révèlent l'existence de trypan. nombreux ou assez nombreux; anémie marquée, sang pâle, leucocytose, rate énorme. — 10 et 15 février, trypan. très nombreux; la souris est malade, poil hérissé.

La souris est trouvée morte le 17 février, elle pèse 27 gr. La rate pèse 2 gr. Durée : 106 jours.

Souris 3. — Inoculée le 10 novembre 1906. — Du 15 au 24 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 26 novembre, trypan. non rares. — 29 novembre, 2 et 5 décembre, trypan. rares. — 8 et 11 décembre, trypan. non rares. — 17, 20, 23 et 26 décembre, trypan. très nombreux qui s'agglomèrent. — La souris meurt le 27 décembre, elle pèse 17 gr.; la rate pèse 1 gr. 25. Durée : 47 jours.

Souris 4. — Inoculée le 10 novembre 1906, dans les mêmes conditions que la souris 3. — Du 15 au 21 novembre, les examens du sang sont négatifs. 24 novembre, trypan. très rares. — 26 et 29, trypan. rares. — 2 et 5 décembre, trypan. non rares. — Du 8 au 17 décembre, trypan. rares ou très rares. — Du 20 au 30 décembre, trypan. non rares. — Du 3 au 18 janvier 1907, trypan. non rares. Rate très volumineuse, facile à limiter par le palper. — Du 21 janvier au 4 février, trypan. rares ou très rares. — 10 février, trypan. non rares. — Les 9 et 27 février, les examens du sang sont négatifs. Rate énorme. — 6 et 9 mars, trypan. non rares. — 15 mars, très rares. — 23 mars, examen du sang négatif. — Du 28 mars au 12 avril, trypan. rares ou très rares. — Du 19 avril au 3 mai, trypan. non rares. — Du 11 au 28 mai, trypan. rares. — 4 juin, trypan. non rares. — 10 juin, très rares. — 26 juin, 4 et 11 juillet, trypan. non rares. — 18 juillet, examen du sang négatif. — 25 juillet, trypan. non rares. — Du 31 juillet au 23 août, trypan. rares. — Du 31 août au 7 septembre, trypan. non rares. — Du 14 au 28 septembre, trypan. très rares. — 5 octobre, trypan. non rares; la souris est malade, diarrhée. Morte le 7 octobre. La souris pèse 24 gr. et la rate 2 gr. Durée : 331 jours.

L'incubation varie de 8 à 30 jours. La multiplication des trypanosomes se fait par poussées dans l'intervalle desquelles les parasites deviennent rares ou très rares dans le sang.

La rate augmente considérablement de volume, elle forme souvent une tumeur transversale occupant toute la largeur de l'abdomen, facile à délimiter par la palpation. Il arrive que la rate, après une phase d'hypertrophie très marquée, diminue de volume (1).

(1) Une souris inoculée avec *Tr. congolense* le 4 décembre 1907 et qui, à plusieurs reprises a montré des trypanosomes nombreux avec hypersplénie très marquée, paraît guérie à la date du 30 octobre 1908. Les examens du sang sont négatifs depuis trois mois et la palpation ne décèle plus l'hypersplénie.

A la dernière période, l'anémie est très marquée, surtout dans les formes à marche lente.

Au moment de la mort, les trypanosomes sont presque toujours nombreux ou très nombreux.

Les hématies s'agglutinent rarement dans le sang des souris ou bien il s'agit d'agglutinations légères.

Le virus semble s'affaiblir par son passage chez les souris. 5 cobayes inoculés sous la peau avec le virus des souris, ne se sont pas infectés; ils n'avaient pas acquis l'immunité; inoculés sur des cobayes ou dans le péritoine avec le virus de souris ils se sont infectés.

2° *Evolution chez le rat.* — 6 rats blancs ont été inoculés avec *Tr. congolense.* La durée moyenne de la maladie qui s'est terminée dans tous les cas par la mort, a été de 19 jours; minimum : 15 jours; maximum : 29 jours. Chez le rat, l'infection produite par *Tr. congolense* est donc plus régulière et beaucoup plus rapide que chez la souris.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang 7 à 8 jours après l'inoculation du virus sous la peau; le nombre des parasites augmente en général d'une façon régulière jusqu'au jour de la mort. A ce moment les trypanosomes sont très nombreux.

3° *Evolution chez le cobaye.* — Contrairement à ce qui arrive pour la souris, l'évolution de l'infection produite par *Tr. congolense* est très régulière chez le cobaye. Il n'est pas rare que deux cobayes inoculés en même temps meurent le même jour ou à 24 heures d'intervalle.

La durée moyenne pour 93 cobayes a été de 14 jours 76; minimum : 9 jours; maximum : 24 jours.

Le tableau suivant montre que la virulence de *Tr. congolense* a été peu influencée à la suite de nombreux passages par cobaye (1).

	jours.
1 à 5 passages. Durée moyenne.................	14,93
6 à 10 — — —	15,54
11 à 15 — — —	13,75
16 à 20 — — —	14,33
21 à 25 — — —	13,54
26 à 30 — — —	15,44
31 à 35 — —	14,90
36 à 40 — — —	13,91

(1) A. Laveran, *Soc. de pathologie exotique*, 8 avril 1908.

La durée moyenne qui, pour les 5 premiers passages, avait été de 14 jours, 93 a été du 31e au 35e passage : 14, 90 et du 36e du 40e : 13, 91.

Les déchirures de la rate qui sont communes, comme nous le verrons plus loin et qui ont pour conséquence des hémorragies intrapéritonéales, abrègent souvent la durée de la maladie.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang vers le 7e jour après l'inoculation du virus sous la peau ; ils augmentent progressivement de nombre et, au moment de la mort, ils sont nombreux ou très nombreux. Il n'y a pas, en général, de crise trypanolytique. L'agglutination des hématies fait souvent défaut ou bien elle est légère.

L'infection se termine toujours par la mort.

4° *Evolution chez le chien.* — La durée moyenne de la maladie chez 8 chiens a été de 34 jours ; minimum : 21 jours ; maximum : 52 jours.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang 10 à 15 jours après l'inoculation du virus sous la peau. Tantôt les trypanosomes se multiplient d'une façon assez régulière, tantôt on observe des crises trypanolytiques.

Au moment de la mort, les trypanosomes sont en général nombreux dans le sang. L'agglutination des hématies est d'ordinaire très apparente chez les chiens infectés.

La dernière période de la maladie est caractérisée par l'amaigrissement et l'affaiblissement. Le chien devient triste ; il n'a plus la vivacité habituelle de ses mouvements ; il reste couché et, quand on le force à se lever, on constate qu'il flageole sur ses pattes ; l'affaiblissement est surtout marqué dans le train postérieur. A la période terminale, le chien se couche sur le flanc et ne peut plus se relever.

Les accidents oculaires, si communs dans les trypanosomiases des chiens, ont fait défaut chez les 8 chiens que j'ai observés.

L'infection se termine toujours par la mort.

On trouvera ci-dessous les observations de deux chiens qui infectés par *Tr. congolense*, sont morts le premier en 40 jours, le deuxième en 24 jours.

1° Un chien est inoculé de *Tr. congolense* le 15 novembre 1906 ; l'inoculation est faite sous la peau Du 21 au 27 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 30 novembre, tryp nosomes rares. — 3 décembre, examen négatif. — 7 décembre, trypan. non rares. — 10 décembre, examen négatif. — 18 et 21 décembre, trypan. rares. — 24 décembre Le chien est très malade, couché sur le flanc, il ne peut plus se relever. Anémie profonde, sang pâle ; trypan. assez rares.

Le chien est trouvé mort le 25 décembre. Il pèse 7kg,150. La rate pèse 84 grammes. Il n'y a pas d'œdèmes, pas d'épanchements dans les séreuses. Les reins sont petits, un peu granuleux. Rien à noter du côté du cœur ni des poumons.

Durée : 40 jours.

2° Un chien reçoit le 2 mai 1907, dans le péritoine, 30 c. c. du sang d'une chèvre infectée avec *Tr. congolense.* — Du 8 au 13 mai, les examens du sang sont négatifs. — 16 mai. trypan. rares. — 18 mai, trypan. très rares. — 21 mai, trypan. non rares. Agglutination très belle des hématies, notée déjà lors des examens faits les 16 et 18 mai. — 24 mai, trypan. nombreux. Le chien est malade, toujours couché. Conjonctivite légère des deux côtés sans opacité des cornées.

Le chien meurt le 26 mai ; il pèse 12 kg. Œdème assez étendu de la paroi abdominale. Quelques gros ganglions lymphatiques, notamment à la racine du membre antérieur droit. Épanchements séreux teintés de sang dans le péritoine, dans la plèvre droite et dans le péricarde.

La rate est énorme, elle pèse 270 grammes. Le parenchyme splénique est très ramolli ; il n'y a pas de déchirure. Rien à noter du côté du foie ni du côté des reins.

Péricarde pariétal couvert de petites ecchymoses. Poumons splénisés à la partie inférieure.

Durée : 24 jours.

5° *Evolution chez les singes.* — L'observation suivante prouve que les Macaques s'infectent facilement par *Tr. congolense* et que ce trypanosome détermine chez eux une maladie à marche rapide.

Un *Macacus rhesus* ♂ du poids de 2kg,570 est inoculé le 25 mars 1907 sur cobaye. — Le 31 mars, l'examen du sang est négatif. — 3 avril, trypan. rares. — 6 et 8 avril, trypan. non rares ; les hématies s'agglutinent. — 10 avril, trypan. assez nombreux. — 13 avril, le singe est moins vif, il paraît souvent endormi. Trypan. nombreux. Agglutination des hématies. — 16, le singe s'affaiblit de plus en plus, il se laisse prendre facilement alors qu'auparavant il faisait une forte résistance. Un peu d'œdème des bourses. Trypan. nombreux.

Le singe va s'affaiblissant et meurt le 18 avril. Poids : 2kg,470. Œdème de la paroi abdominale. Les ganglions axillaires et inguinaux sont augmentés de volume. Pas d'épanchements dans les séreuses.

La rate pèse 16 grammes. Rien à noter du côté des viscères abdominaux ou thoraciques.

Durée : 24 jours.

6° *Evolution chez les Caprins.* — Les chèvres s'infectent facilement; la maladie, d'assez longue durée, se termine d'ordinaire par la guérison.

On trouvera plus loin les observations détaillées d'une chèvre et d'un bouc qui ont très bien résisté à l'infection due à *Tr. congolense.*

La chèvre inoculée le 15 novembre 1906 a eu une poussée fébrile assez forte à partir du 8e jour après l'inoculation, et ensuite quelques poussées de moindre importance, puis la température est redevenue normale.

Des trypanosomes très rares ont été vus à différentes reprises, principalement au moment des poussées fébriles et le sang s'est montré infectant pour les chiens jusqu'au 6e mois après l'inoculation.

En dehors des poussées fébriles et de l'existence des trypanosomes dans le sang, aucun symptôme morbide n'a été constaté.

Lorsque le sang ne s'est plus montré infectant, la chèvre a été réinoculée avec *Tr. congolense*, cette opération a été suivie d'une légère réinfection ; deux autres réinoculations ont été faites ensuite sans résultat, la chèvre avait donc acquis une immunité solide pour *Tr. congolense.*

L'observation du bouc est semblable à celle de la chèvre, l'infection produite par *Tr. congolense* a été seulement de plus longue durée (10 mois environ), aucun symptôme morbide apparent n'a été noté au cours de l'infection. Une première réinoculation a été suivie d'une réinfection légère ; deux autres réinoculations ont été faites ensuite sans résultat ; le bouc avait donc acquis, comme la chèvre, une immunité solide pour *Tr. congolense.*

Chez les moutons infectés spontanément par *Tr. congolense*, on observe une diminution de l'appétit, un amaigrissement très marqué, de la faiblesse des membres, de l'anémie avec hémophilie. Les trypanosomes sont toujours rares ou très rares dans le sang (Broden).

7° *Evolution chez les Bovidés.* — Les Bovidés infectés devien-

nent paresseux, ils marchent en queue du troupeau; au pâturage ils restent isolés, immobiles, la tête inclinée vers le sol.

A une période plus avancée de l'infection, les animaux maigrissent, les côtes deviennent saillantes. Le poil est terne, sale; souvent il existe de la conjonctivite. Les animaux marchent péniblement, en traînant les membres postérieurs. Il n'y a pas d'œdèmes; les ganglions lymphatiques sont d'ordinaire hypertrophiés. L'examen du sang est souvent négatif; il est plus facile de trouver les trypanosomes en ponctionnant les ganglions lymphatiques superficiels que par examen direct du sang. La durée de l'infection est assez longue (Broden).

8° *Evolution chez les Equidés.* — Le symptôme principal est l'amaigrissement. Il n'y a pas d'œdèmes. Les trypanosomes sont rares dans le sang. Un âne infecté spontanément au poste de Galiema est mort au cinquième mois de la maladie (Broden).

III. Anatomie pathologique.

L'hypersplénie est souvent la seule lésion notée à l'autopsie des animaux qui succombent à l'infection produite par *Tr. congolense*.

Chez la souris, le rat, le cobaye et le chien, la rate est toujours augmentée de volume; chez les Bovidés au contraire, et vraisemblablement chez les Caprins, l'hypersplénie fait défaut. C'est une règle pour les trypanosomiases que la rate augmente beaucoup de volume chez les animaux qui ont de nombreux trypanosomes dans le sang, tandis qu'elle conserve à peu près ses dimensions normales chez ceux qui, au cours de l'infection, ne montrent que de rares trypanosomes. Cette règle s'applique bien aux infections dues à *Tr. congolense*.

Le poids de la rate pour des souris de 20 gr. atteint souvent 1 gr. 50 à 2 gr.

Chez une souris de 25 gr. la rate pesait 5 gr., soit le cinquième du poids du corps.

Chez des rats de 80 à 100 gr. le poids de la rate a atteint plusieurs fois 2 gr., 2 gr. 50 et même 3 gr.

Pour 57 cobayes du poids moyen de 500 gr, le poids moyen de la rate a été de 4 gr. 50.

Les ruptures de la rate suivies d'épanchement sanguin in-

trapéritonéal ont été notées 21 fois pour 100 chez les cobayes infectés avec *Tr. congolense.* Cet accident se produit également dans d'autres trypanosomiases mais, d'après mes observations, avec une fréquence moins grande (1).

Je résume ci-dessous les observations des cobayes chez lesquels j'ai observé des déchirures de la rate, ou des lésions de ce viscère précédant la déchirure.

Cobaye 1. Inoculé le 2 novembre 1906 (2). Le 17 novembre, trypan. nombreux. Mort le 18 novembre. Le cobaye pèse 580 gr. Il existe un épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate qui pèse 8 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 2. Inoculé le 17 novembre 1906. 30 nov. trypan. nombreux. Mort le 1er décembre. Le cobaye pèse 520 gr. Œdème de la paroi abdominale; épanchement sanguin intrapéritonéal abondant ; la rate qui pèse 5 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 3. Inoculé le 27 novembre 1906. Mort le 30 novembre. Le cobaye pèse 550 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine ; la rate qui pèse 8 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 4. Inoculé le 25 janvier 1907. 4 février, trypan. assez nombreux. Mort le 10 février. Le cobaye pèse 480 gr. Epanchement sanguin très abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une déchirure très apparente.

Cobaye 5. Inoculé le 4 février 1907. 12 février, trypan. assez nombreux. Mort le 18 février. Le cobaye pèse 730 gr. Epanchement abondant de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 6. Inoculé le 4 février 1907. Mort le 18 février. Le cobaye pèse 750 gr. Epanchement de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 7 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 7. Inoculé le 19 avril 1907. 26 avril, trypan. non rares. Mort le 1er mai. Le cobaye pèse 400 gr. Hémorragie abondante dans le péritoine. La rate pèse 3 gr. L'existence d'une déchirure de la rate n'a pas été établie, mais elle est très probable.

Cobaye 8. Inoculé le 24 mai 1907. 4 juin. trypan. nombreux. Mort le 5 juin. Le cobaye pèse 450 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 4 gr. présente une petite déchirure à la face interne, au voisinage du hile.

Cobaye 9. Inoculé le 5 décembre 1907. Mort le 24 septembre avec des trypan. nombreux. Le cobaye pèse 350 gr. Epanchement de sang abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une petite déchirure.

(1) A. Laveran, *Société de pathologie exotique*, 8 juillet 1908.

(2) Toutes les inoculations de *Tr. congolense* chez les cobayes ont été faites dans une des cuisses.

Cobaye 10. Inoculé le 10 décembre 1907. Mort le 23 décembre avec des trypan. nombreux. Le cobaye pèse 450 gr. Epanchement abondant de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 5 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 11. Inoculé le 17 janvier 1908. 6 février, trypan. assez nombreux. Mort le 9 février. Le cobaye pèse 470 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 4 gr. présente une petite déchirure sur son bord antérieur.

Cobaye 12. Inoculé le 17 janvier 1908. Le 28 février le cobaye ne s'est pas infecté; il est réinoculé dans le péritoine. 11 mars, trypan. assez nombreux. Mort le 14 mars. Le cobaye pèse 480 gr. Epanchement sanguin dans le péritoine. La rate est énorme, elle pèse 19 gr. Elle est ramollie, mais il n'est pas possible de découvrir une déchirure comme point de départ de l'hémorragie intrapéritonéale. La paroi abdominale est infiltrée de sang. A la coupe de la rate, on trouve des infarctus hémorragiques.

Cobaye 13. Inoculé le 8 avril 1908. 22 avril, trypan. nombreux. Mort le 23 avril. Le cobaye pèse 580 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. 50 présente une petite déchirure à sa partie supérieure.

Cobaye 14. Inoculé le 26 avril 1908. Mort le 10 mai. Le cobaye pèse 510 gr. Epanchement sanguin très abondant dans le péritoine. A la face interne de la rate, déchirure qui occupe la moitié de la hauteur du viscère, la capsule est décollée. Il paraît évident qu'un foyer hémorragique de la rate s'est rompu dans le péritoine. La rate pèse 7 gr. Tous les viscères sont anémiés.

Cobaye 15. Inoculé le 13 mai 1908. Mort le 29 mai. Le cobaye pèse 400 gr. Epanchement sanguin très abondant dans le péritoine. A la face interne de la rate, large déchirure qui occupe toute la moitié inférieure; la capsule est décollée autour de la déchirure. Il paraît évident qu'il y a eu rupture dans le péritoine d'un foyer hémorragique qui s'était produit dans la rate. La rate pèse 5 gr. Tous les viscères sont anémiés.

Cobaye 16. Inoculé le 13 mai 1908. Mort le 10 juin. Le cobaye pèse 300 gr. Il n'y a pas d'épanchement sanguin dans le péritoine. La rate est volumineuse, elle pèse 5 gr. A la partie inférieure de la rate on trouve un foyer hémorragique fluctuant, du volume d'une noix. Le foyer est très superficiel contenu seulement par la capsule de la rate qui est soulevée et qui a pris au niveau du foyer une teinte rouge foncé. Si la capsule s'était rompue, il y aurait eu formation d'un épanchement sanguin intrapéritonéal et on aurait trouvé des lésions spléniques tout à fait semblables à celles notées chez les cobayes 14 et 15.

Cobaye 17. Inoculé le 23 mai 1908. Le cobaye s'infecte et meurt le 16 juin Il pèse 500 gr. Epanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate considérablement hypertrophiée présente, à sa face externe, une déchirure transversale qui mesure 1 cm. 5 de long. Il n'y a pas de foyers d'hémorragie dans la rate. La rate pèse 10 gr.

Les déchirures de la rate se produisent par un des procédés

suivants : 1° la capsule de la rate fortement distendue cède sur un ou plusieurs points; 2° il se produit une hémorragie intrasplénique qui, si elle est superficielle, soulève la capsule, la décolle et la rompt (les observations des cobayes 14, 15 et 16 sont des exemples de ce mécanisme de la déchirure).

Les traumatismes (chute, action de saisir brusquement les cobayes, etc...), peuvent faciliter les déchirures de la rate, mais ils ne sont pas nécessaires pour la production de ces accidents. J'ai observé la déchirure de la rate chez beaucoup de cobayes qui, depuis plusieurs jours, n'avaient pas été maniés.

Les hémorragies intraspléniques expliquent l'énorme développement que la rate prend quelquefois.

L'hypersplénie est constante et parfois considérable chez les chiens qui succombent à l'infection due au *Tr. congolense*. Chez un chien du poids de 12 kg., la rate pesait 200 gr. ; elle était très molle ; chez un autre chien du poids de 9 kg., la rate pesait 175 gr.

Chez les Bovidés, les ganglions lymphatiques sont souvent hypertrophiés. Des exsudats de sérosité citrine ou sanguinolente, dans le péritoine ou dans le péricarde, sont signalés par Broden comme fréquents.

IV

Nature du **Tr. congolense**. Diagnostic différentiel avec **Tr. dimorphon**.

Par ses petites dimensions, *Tr. congolense* se distingue nettement des trypanosomes du type *Tr. Evansi* (*Tr. Brucei*, *Tr. gambiense*, *Tr. Cazalboui*, *Tr. soudanense*).

Tr. nanum (1) a, au point de vue morphologique, une grande ressemblance avec *Tr. congolense*, mais, d'après A. Balfour, *Tr. nanum* serait particulier aux Bovidés ; *Tr. congolense* est au contraire inoculable à un grand nombre de Mammifères.

C'est avec *Tr. dimorphon* que *Tr. congolense* présente les plus grandes analogies; tous les observateurs qui ont étudié ces trypanosomes ont insisté sur les difficultés du diagnostic différentiel, quelques-uns ont admis leur identité.

(1) A. Laveran, *Société de Biologie*, 18 février 1905. — A. Balfour, *Edinburgh med. Journal*, septembre 1905.

Au point de vue morphologique, *Tr. congolense* diffère de *Tr. dimorphon*. Le premier de ces trypanosomes mesure 10 μ à 13 μ de long, les exemplaires qui atteignent 15 μ à 17 μ de long sont fort rares; *Tr. dimorphon* présente au contraire, dans les cas types, un mélange de petites formes (10 μ à 15 μ de long) et de grandes formes (22 μ de long en moyenne). Il suffit de comparer les figures II et III, pour se rendre compte des différences existant entre les formes typiques de ces deux trypanosomes. Mais *Tr. dimorphon* ne se présente pas toujours sous ses formes typiques.

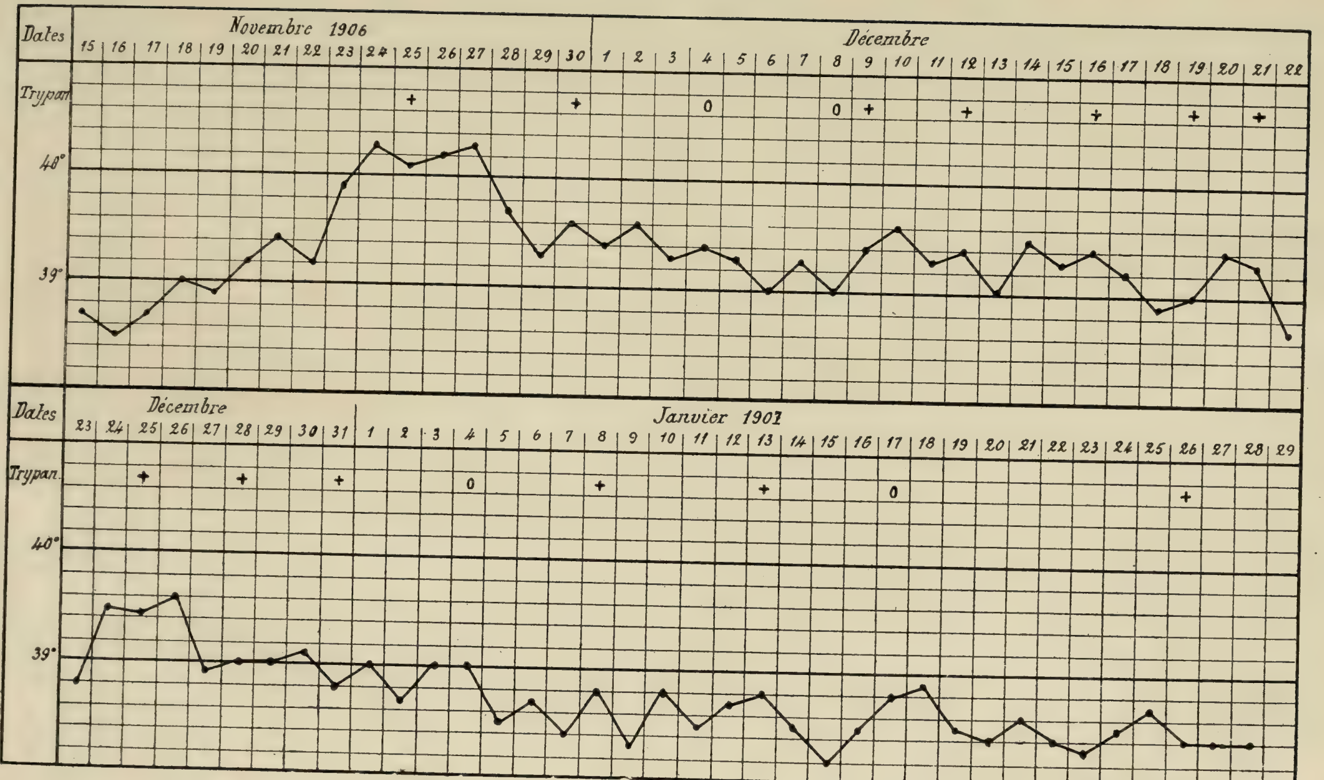


Figure III. 1, 2, 3, petites formes de *Tr. dimorphon*. — 4, grande forme de *Tr. dimorphon*. — 5 et 6, trypanosomes en voie de division. Gross. 1400 D environ.

Dans certaines infections dues à *Tr. dimorphon*, les grandes formes sont rares ou très rares; si bien qu'on pouvait supposer que *Tr. congolense* était une variété de *Tr. dimorphon* dans laquelle les grandes formes avaient disparu. *Tr. congolense* a la plus grande ressemblance avec les petites formes de *Tr. dimorphon* : l'extrémité postérieure est le plus souvent arrondie et il n'y a pas de partie libre du flagelle.

L'action pathogène sur les différentes espèces animales ne fournit pas non plus d'indications suffisantes pour le diagnostic différentiel. On peut noter seulement que les infections par *Tr. dimorphon* ont, en général, une marche plus rapide que celles qui sont produites par *Tr. congolense*.

Chez la souris, l'infection due à *Tr. congolense* est d'ordinaire de plus longue durée que celle qui est produite par *Tr. dimorphon*.



Tracé n° 1. Tracé thermométrique de la chèvre inoculée avec *Tr. congolense* le 15 novembre 1906.

Chez les Caprins, les infections dues à *Tr. congolense* se terminent plus souvent par guérison que celles qui relèvent de *Tr. dimorphon*.

En général, les animaux (chèvres, moutons) qui ont résisté à l'infection par *Tr. dimorphon* n'ont pas l'immunité, alors que les animaux guéris naturellement d'une infection par *Tr. congolense* acquièrent l'immunité pour ce virus.

Il était indiqué de rechercher si un animal guéri d'une infection par *Tr. congolense* et ayant l'immunité pour cette trypanosomiase pourrait être infecté par *Tr. dimorphon*. J'ai pu réaliser cette expérience sur une chèvre et sur un bouc, je résume les observations de ces deux animaux.

I. Une chèvre neuve du poids de 31kg est inoculée avec *Trypanosoma congolense* le 15 novembre 1906. L'inoculation est faite sous la peau de l'oreille avec du sang de cobaye dilué dans de l'eau physiologique citratée.

La chèvre a une poussée fébrile du 23 au 28 novembre; température maxima 40°,3.

Les examens du sang de la chèvre, faits le 25 novembre et à différentes reprises pendant les mois de décembre 1906 et de janvier 1907, révèlent l'existence de trypanosomes rares ou très rares.

Du 29 novembre au 26 décembre, la température de la chèvre se maintient entre 39° et 39°,6 (Voir tracé n° 1).

Le 1er décembre, la chèvre pèse 27kg; les 15 et 31 décembre, 32kg.

A partir du 27 décembre, et pendant les mois qui suivent, la température se maintient entre 38° et 39°; elle est donc normale.

Pendant les mois de février, mars et avril, les examens du sang sont le plus souvent négatifs; cependant on note à diverses reprises la présence de trypanosomes très rares. La chèvre va bien; elle pèse, le 17 février, le 18 mars et le 15 avril, 34kg.

A partir du 8 avril, les examens directs du sang de la chèvre sont négatifs.

Le 2 mai, on injecte à un chien, dans le péritoine, 30cm3 du sang de la chèvre; le chien s'infecte et meurt le 26 mai.

Le 3 juin, on inocule avec le sang de la chèvre un cobaye (4cm3 de sang dans le péritoine) et deux souris; ces animaux ne s'infectent pas.

Un chien inoculé le 15 juillet (30cm3 de sang dans le péritoine) ne s'infecte pas.

Le 22 août, la chèvre qui paraît guérie est réinoculée avec *Tr. congolense*; elle ne présente à la suite de cette inoculation aucun symptôme morbide.

6 septembre. On inocule, sur la chèvre, un chien qui reçoit dans le péritoine 30cm3 de sang et trois souris qui reçoivent chacune 0cm3,25 de sang. Le chien s'infecte et meurt, les souris ne s'infectent pas. Les examens du sang de la chèvre sont négatifs.

La chèvre va très bien; elle pèse le 2 octobre 39kg et le 4 novembre 41kg.

Un chien inoculé le 7 octobre (30^{cm3} de sang dans le péritoine) s'infecte; un autre chien inoculé le 7 novembre, dans les mêmes conditions, ne s'infecte pas. La réinfection de la chèvre a donc été légère.

Le 20 décembre, la chèvre est réinoculés de *Tr. congolense*.

6 janvier 1908. Un chien reçoit, dans le péritoine, 40^{cm3} du sang de la chèvre; il ne s'infecte pas.

6 février. Je réinocule encore la chèvre avec *Tr. congolense*.

21 février. Un chien reçoit, dans le péritoine, 40^{cm3} du sang de la chèvre; il ne s'infecte pas.

Après ces deux épreuves, il paraît bien établi que la chèvre est guérie et qu'elle a acquis l'immunité pour *Tr. congolense*.

1er avril 1908. La chèvre est en très bon état, elle pèse 44^{kg}. Les chiens inoculés le 6 janvier et le 21 février, chacun avec 40^{cm3} de sang, ne se sont pas infectés. J'inocule la chèvre sous la peau des oreilles avec le sang d'une souris fortement infectée de *Tr. dimorphon*.

Le 10 avril, la température de la chèvre monte à 40° et, le 13 avril, à 41°,1 (température normale 38°,7). (Voir tracé n° 2). L'examen du sang de la chèvre fait le 13 avril révèle l'existence de trypanosomes non rares.

Sur les préparations colorées, on distingue de petits et de grands trypanosomes.

Le 15 avril, nouvelle poussée fébrile; le thermomètre, qui était descendu le 14 à 38°,8, monte le 15 à 40°,8. Les trypanosomes sont moins nombreux dans le sang de la chèvre que le 13 avril.

Le 16 avril, la température est de 40°, et le 17, de 39°,6. L'examen du sang fait le 17 avril révèle encore l'existence de trypanosomes.

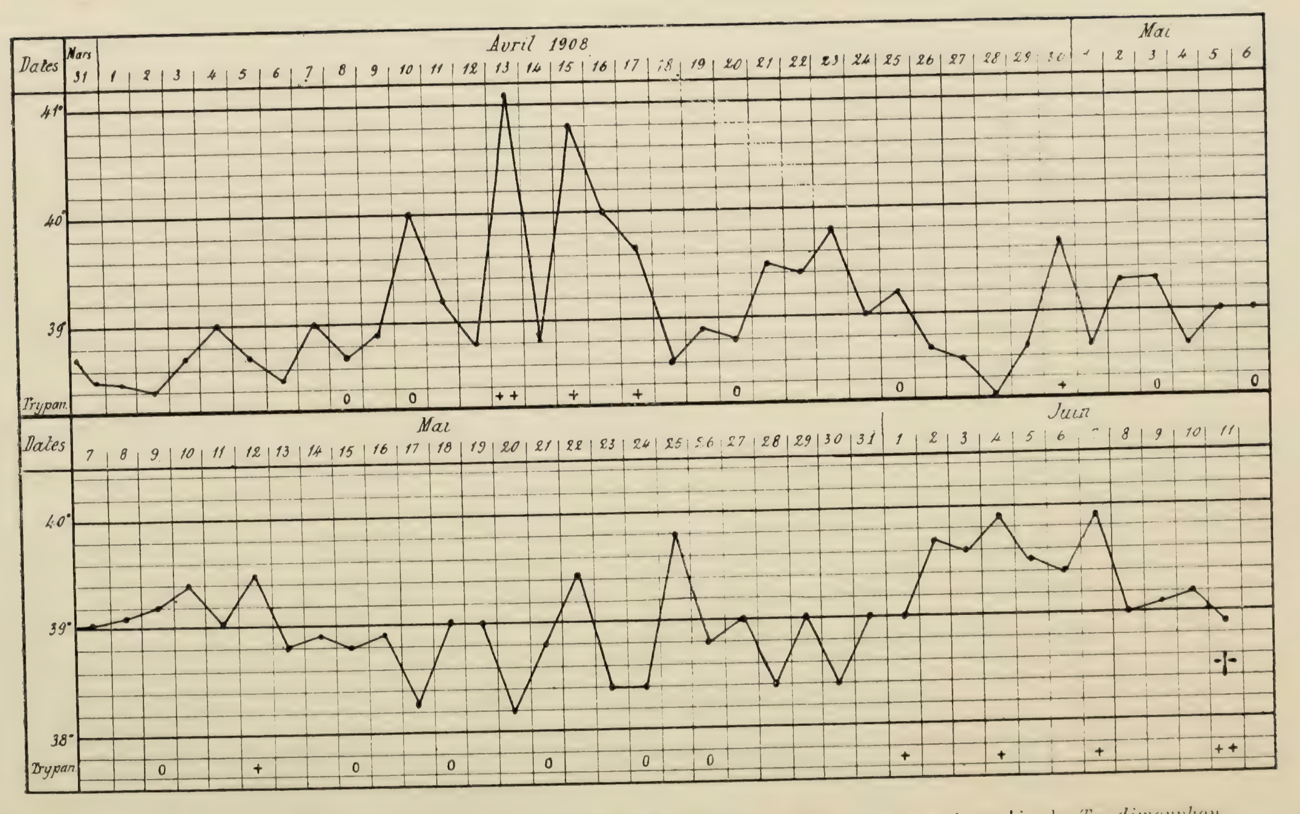
A partir du 17 avril, jusqu'au 1er juin, la température se maintient aux environs de 39°; à quatre reprises seulement on note de faibles poussées fébriles avec des températures de 39°,8, 39°,7, 39°,5, 39°,8 (Voir le tracé). Les examens du sang faits pendant cette période sont le plus souvent négatifs; je note seulement 3 fois l'existence de trypanosomes rares (30 avril, 12 mai, 1er juin). Trois souris inoculées le 19 mai, chacune avec $0^{cm3},25$ du sang de la chèvre s'infectent et meurent de trypanosomiase.

La chèvre maigrit, le poids qui, le 1er avril, était de 44^{kg} tombe le 1er mai à 42^{kg} et le 1er juin à 37^{kg}. Anémie qui, marquée dès le 15 mai, va en augmentant. Les muqueuses se décolorent, le sang est de plus en plus pâle.

Du 2 au 7 juin, on note une poussée fébrile pendant laquelle la température atteint 39°,9. Les examens du sang faits les 4 et 7 juin montrent des trypanosomes rares. La chèvre s'anémie et s'affaiblit.

Du 8 au 11, la température se maintient à 39°; le 11 au matin on note encore 38°,9; à l'examen du sang, je constate des trypanosomes non rares. La chèvre est très faible, elle reste couchée et meurt brusquement le 11 juin au soir.

Autopsie faite le 12 juin. Poids de la chèvre : $34^{kg},600$. Il y a encore beaucoup de graisse dans les épiploons, autour des reins et du cœur. Pas d'œdèmes. Un peu de sérosité citrine dans le péritoine. Les reins sont très



Tracé n° 2. Tracé thermométrique de la chèvre ayant l'immunité pour *Tr. congolense*, inoculée de *Tr. dimorphon* le 1er avril 1908.

pâles (anémie). La rate pèse 223 gr. Poumons et cœur normaux. Pas d'épanchements séreux dans les plèvres ni dans le péricarde.

II. Un chevreau du poids de 13kg est inoculé le 6 décembre 1906, sous la peau d'une des oreilles, avec quelques gouttes du sang d'un rat infecté de *Tr. congolense*, diluées dans de l'eau physiologique citratée.

Du 16 au 28 décembre, on constate à plusieurs reprises l'existence de trypanosomes rares dans le sang du chevreau.

31 décembre, examen du sang négatif. Poids : 14kg,700.

17 janvier 1907, trypanosomes très rares.

1er février. Poids : 14kg. Du 26 janvier au 25 février, les examens du sang sont négatifs.

17 février. Le chevreau pèse 17kg.

25 février. On inocule trois souris ; chacune d'elles reçoit, dans le péritoine, 0cm3,25 du sang de chevreau. Les souris s'infectent et meurent de trypanosomiase.

3 mars, trypanosomes rares dans le sang du chevreau. Du 8 au 23 mars, les examens sont négatifs. Le 4 mars, le chevreau pèse 18kg.

28 mars, trypanosomes très rares.

Du 3 au 23 avril, les examens du sang sont négatifs.

27 avril, trypanosomes très rares.

Du 2 au 27 mai, examens du sang négatifs. Le 1er mai, le chevreau pèse 21kg et le 16 mai 22kg.

Les examens du sang faits au mois de juin sont négatifs. Le 27 juin on inocule à un chien, dans le péritoine, 25cm3 du sang du chevreau ; le chien est infecté le 9 juillet et il meurt le 18 juillet. Poids du chevreau les 1er et 15 juin : 24 kg.

22 août. Un chien inoculé s'infecte et meurt de trypanosomiase.

10 octobre. Un chien inoculé (30cm3 de sang dans le péritoine) ne s'infecte pas.

13 novembre. Le chevreau est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. Le chevreau, qui est devenu un bouc, pèse 24kg.

28 novembre. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30cm3 du sang du bouc ; il s'infecte et meurt de trypanosomiase.

13 janvier 1908. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30cm3 du sang du bouc ; il ne s'infecte pas.

Au mois de février 1908, le bouc qui incommode le voisinage par ses cris est castré.

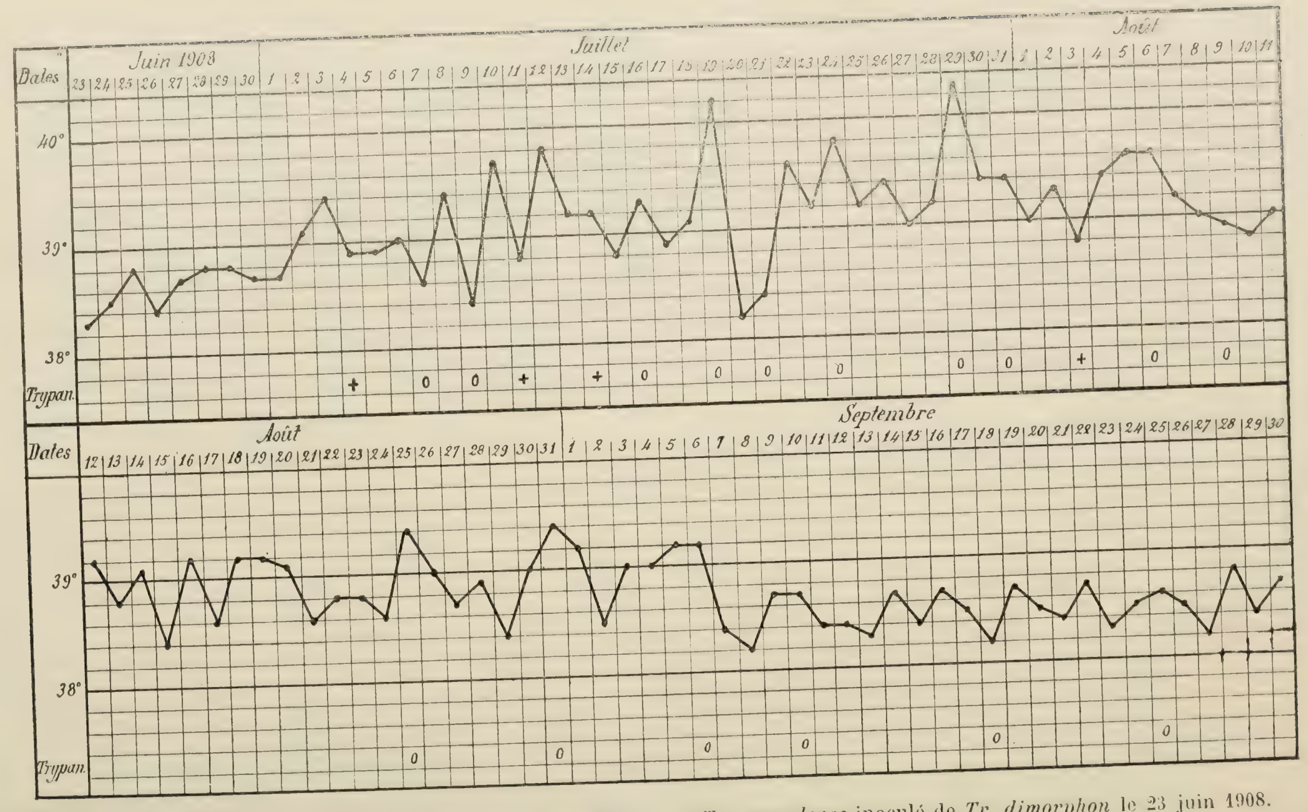
4 mars. Le bouc est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. Poids : 26kg.

19 mars. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30cm3 du sang du bouc ; il ne s'infecte pas.

2 avril. Le bouc pèse 27kg.

22 avril. Le bouc est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. La température du bouc, prise du 22 avril au 17 mai reste normale et les examens du sang faits à plusieurs reprises sont négatifs.

7 mai. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30cm3 du sang du bouc.



Tracé n° 3. Tracé thermométrique du bouc ayant l'immunité pour *Tr. congolense* inoculé de *Tr. dimorphon* le 23 juin 1908.

Le 1er mai, le bouc pèse 32kg, et le 16 mai, 33kg.

Le 7 mai, un chien reçoit, dans le péritoine, 30cm3 du sang du bouc.

Le 1er juin, le bouc pèse 33kg, et le 15, 33kg,700.

23 juin. Le chien inoculé le 7 mai ne s'est pas infecté; j'inocule le bouc avec le *Tr. dimorphon* (virus du laboratoire de l'Institut Pasteur). Quelques gouttes du sang d'une souris ayant des trypanosomes très nombreux sont diluées dans de l'eau physiologique citratée et injectées sous la peau d'une des oreilles.

Du 23 juin au 1er juillet, la température du bouc se maintient entre 38°,3 et 38°,8 (normale). A partir du 2 juillet, on observe des poussées fébriles (39°,4 les 3 et 8 juillet, 39°,7 le 10 et 39°,8 le 12 juillet). (Voir le tracé n° 3). Le bouc est moins vif; il maigrit un peu; le 2 juillet, il pèse 31kg,400. Le 4 juillet, je note, à l'examen du sang du bouc, des trypanosomes très rares.

Les 7 et 9 juillet, les examens sont négatifs; 11 et 14 juillet, trypanosomes très rares.

Les 19 et 29 juillet, poussées fébriles; la température s'élève à 40°,2 et 40°,3.

Les examens du sang faits les 19, 21, 24, 29 et 31 juillet sont négatifs.

Le 1er août, trois souris blanches sont inoculées; chaque souris reçoit, dans le péritoine, 0cm3,25 de sang du bouc; les trois souris s'infectent en 7 ou 8 jours.

Le 3 août, l'examen direct du sang du bouc révèle l'existence de trypanosomes très rares. Les examens du sang faits les 6, 9 et 25 août sont négatifs.

Pendant le mois d'août, le bouc a encore des poussées fébriles, mais ces poussées sont moins fortes qu'en juillet. Du 4 au 6 août, la température se maintient à 39°,4 ou 39°,6; du 12 au 31 août, elle s'élève à plusieurs reprises à 39°,2 ou 39°,4.

Le bouc, qui avait maigri, augmente de poids; il pèse, le 1er et le 15 août, 35kg.

En dehors des poussées fébriles, on n'observe aucun symptôme morbide.

A partir du 7 septembre, la température se maintient entre 38°,2 et 38°,7, c'est-à-dire qu'elle est normale.

Le 3 septembre, le bouc pèse 32kg,300 et le 16 septembre 33kg.

Les examens du sang faits les 6, 10, 18 et 25 septembre sont négatifs, mais sur 3 souris inoculées le 10 septembre avec le sang du bouc 2 s'infectent en 7 et 9 jours.

Ces deux observations présentent de grandes analogies. La chèvre et le bouc inoculés avec *Tr. congolense* se sont infectés et, dans les deux cas, l'infection s'est terminée par guérison. La durée de la maladie a été seulement plus longue chez le bouc que chez la chèvre.

Les deux animaux réinoculés une première fois avec *Tr. congolense* ont eu des réinfections légères, de durée très

courte, après quoi deux réinoculations sont restées sans résultat, d'où l'on peut conclure que la chèvre et le bouc avaient acquis une immunité solide pour *Tr. congolense*. L'inoculation du *Tr. dimorphon* faite alors a produit, chez les deux animaux, une infection typique, identique à celle qu'on observe chez des chèvres neuves, infection très grave qui s'est terminée par la mort dans un cas (72 jours) et qui est encore en cours dans l'autre cas.

Il serait intéressant de faire la contre-épreuve et de montrer qu'un animal ayant acquis l'immunité pour le *Tr. dimorphon* reste sensible au *Tr. congolense*; malheureusement les animaux infectés par *Tr. dimorphon* qui résistent à cette trypanosomiase, acquièrent rarement l'immunité.

Dès maintenant, je crois pouvoir conclure des faits cités plus haut que *Tr. congolense* constitue une espèce distincte de *Tr. dimorphon*.

V

PROPHYLAXIE. TRAITEMENT.

Il est vraisemblable que l'infection due à *Tr. congolense* est propagée par les *Glossina* qui abondent dans l'État indépendant du Congo et peut-être aussi par d'autres mouches piquantes. Il faut donc : 1° abattre les animaux malades ou du moins les soustraire aux piqûres des mouches ; 2° éviter les pâturages qui sont situés sur les bords des cours d'eau ; c'est là en effet que pullulent les *Glossina*. Il est indiqué de déboiser le terrain aux environs des villages et des fermes. Cette mesure est une des plus efficaces que l'on puisse conseiller pour la prévention de la trypanosomiase humaine comme pour celle des trypanosomiases animales.

Si l'on est obligé de conserver des animaux domestiques dans une localité où les mouches piquantes abondent, on pourra mettre les animaux dans des écuries dont toutes les ouvertures seront garnies de toiles métalliques et on ne les fera sortir que pendant la nuit.

En général, il vaut mieux abattre les animaux infectés de

trypanosomiase que de les traiter; cependant, quand il s'agit d'animaux de prix, on peut les soumettre au traitement par l'orpiment qui a donné de très bons résultats à MM. Thiroux et Teppaz dans le traitement de chevaux atteints de trypanosomiase au Sénégal (1).

(1) *Académie des sciences*, 12 octobre 1908.

Sur les propriétés des races de Trypanosomes résistantes aux médicaments.

Par F. MESNIL et E. BRIMONT (1)

Lorsque, au cours du traitement d'un animal infecté de trypanosomiase, les rechutes se précipitent, il peut arriver un moment où les trypanosomes ne sont plus influencés par une nouvelle injection du médicament. C'est là une constatation qui a été faite certainement par tous ceux qui, depuis 1902, se sont occupés de chimiothérapie. L'un de nous, en collaboration avec M. Nicolle (2), l'a nettement formulée. Le mérite d'Ehrlich et de ses collaborateurs, Röhl et Browning (3), est d'avoir reconnu que ces trypanosomes résistants pouvaient l'être *héréditairement*, qu'il y avait, en d'autres termes, création d'une *race* nouvelle. Il convient de remarquer qu'il n'en est pas toujours ainsi. Par exemple, Uhlenhuth, Hübener et Woithe (4), en traitant par l'atoxyl des animaux dourinés, ont vu la résistance des Trypan. à ce médicament apparaître graduellement jusqu'à devenir complète ; mais elle ne peut être transmise chez un autre animal. Nous (5) avons fait une constatation analogue pour les souris naganées traitées à l'émétique, et Plimmer et Bateman (6) viennent de confirmer ce fait pour les rats traités avec le même médicament.

Quoi qu'il en soit, la découverte d'Ehrlich n'en a pas moins un caractère de généralité. Ce savant et ses collaborateurs ont créé diverses *races* résistantes : à l'atoxyl, à diverses couleurs de benzidine, à la parafuchsine. Plimmer et Thomson (7) ont préparé de leur côté, chez les rats, des races de Surra et de Nagana résistantes à l'atoxyl qui avaient conservé leurs propriétés à travers 6-8 passages.

Nous avons aussi obtenu facilement une race de Surra égale-

(1) Nous tenons à inscrire à la 1re page de ce travail le nom de M. le docteur M. Leger qui nous a apporté son concours dévoué dans une partie de nos expériences.

(2) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX, 1906 ; voir p. 528.

(3) Ehrlich, *Berlin. klin. Woch.*, mars 1907, nos 9-12 ; — Browning, *British med. Journ.*, nov. 1907 ; *Journ. Path. a. Bacter.*, t. XII, 1908.

(4) *Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, t. XXVII, 1907.

(5) *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 9 mai 1908.

(6) *Proc. Roy. Soc., B.*, 25 août 1908.

(7) *Proc. Roy. Soc., B.*, t. LXXIX, 1907.

ment résistante à l'atoxyl (1) et nous avons pu la rendre résistante à l'émétique. La possession de ces races nous a permis à découvrir un certain nombre de faits nouveaux que nous avons fait connaître brièvement : importance de l'espèce animale infectée pour la *manifestation* de la résistance ; évaluation *in vitro* de la résistance à l'émétique. Nous avons de plus étendu la notion, posée par Ehrlich, de la spécificité des races. Nos constatations relatives à l'importance de l'espèce animale pour la manifestation de la résistance ont été confirmées et étendues par les recherches des savants de Liverpool, Breinl et Nierenstein d'une part (2), Moore, Nierenstein et Todd (3) de l'autre. Nous discuterons leurs résultats après avoir exposé les nôtres en détail.

I

RACE DE T. GAMBIENSE RÉSISTANTE A LA COULEUR DE BENZIDINE « PH »

Mesnil, Nicolle et Aubert (4) ont montré que la couleur de benzidine la plus active vis-à-vis des infections à *T. gambiense* était la couleur « Ph » (p. diamidodiphénylurée + acide H).

Or, chez un rat qui, traité par cette couleur à la dose de 3 centigrammes par 100 grammes, montrait des rechutes précipitées, la 3e injection de la couleur n'a eu qu'une action faible sur les trypanosomes, la 4e n'a plus agi du tout. Le 11 avril 1907, 5 jours après cette dernière intervention, le virus a été porté sur d'autres rats. L'un d'eux, traité par Ph, à 2 reprises, sans succès, a été, 7 jours après la 2e intervention, le point de départ d'une série de passages. Au 5e, les trypanosomes, qui n'avaient plus eu de contact avec le médicament depuis 6 mois, étaient encore résistants (5 centigrammes de Ph n'ont pu faire disparaître les trypanosomes de la circulation d'un rat de 120 grammes). Au 6e, les trypanosomes étaient redevenus sensibles à Ph. Ils ont toujours conservé leur sensibilité normale à l'atoxyl.

II

OBTENTION D'UNE RACE DE SURRA RÉSISTANTE A L'ATOXYL

Nous avons obtenu cette race avec facilité en profitant des

(1) *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIV, 11 avril 1908.
(2) *Deutsche mediz. Woch.*, n° 27, 1908.
(3) *Ann. of trop. Med. a. Parasit.*, t. II, juillet 1908.
(4) *Ann. Inst Pasteur*, t. XXI, 25 janvier 1907.

recherches thérapeutiques entreprises à Alfort, au laboratoire de M. Vallée, par le Dr Lafont et encore inédites.

Un cheval inoculé de trypanosomes du Surra de l'île Maurice, gardés sur cobaye depuis 6 mois environ, est pris, sans retard dans l'incubation, malgré une injection préventive de 5 grammes d'atoxyl. Il est soumis au traitement atoxylique par doses de quelques grammes ; on constate qu'au bout d'un certain temps ces mêmes doses n'agissent plus. Ainsi, au 28e jour (26 mars 1907), alors que l'animal avait déjà reçu 34 grammes d'atoxyl, une nouvelle injection, dosée comme les précédentes, reste sans effet. Mais il faut noter que cette résistance n'était que relative, car de plus fortes doses d'atoxyl ont fait à nouveau disparaître les trypanosomes et le cheval a encore pu être gardé vivant près de 2 mois.

Le 26 mars, immédiatement avant l'injection, on inocule le sang du cheval à une souris, qui s'infecte. Traitée par la dose ordinaire d'atoxyl, elle n'en retire aucun bénéfice. Pour les 3 premiers passages par souris (4, 10 et 17 avril), on attend, pour prendre les trypanosomes, le résultat (nul ou presque nul) de l'injection d'atoxyl ; nous avions en vue le renforcement de la résistance, manifeste dès la 1re souris, de notre virus à l'atoxyl.

A partir de la souris du 17 avril, nous avons, dans une série que nous désignerons par la lettre R, conservé notre virus sur souris *en ayant soin de faire les passages avec des trypanosomes n'ayant été soumis à aucun médicament.* Une seule exception est à noter : la 5e souris de passage (en donnant le no 1 à celle du 17 avril) a été traitée par l'acide arsénieux et la 6e souris a été faite avec les trypanosomes de rechute de ce traitement ; mais comme nous prouverons la quasi-indépendance d'action de (As^2O^3) et de l'atoxyl, cela importe peu ; il suffirait d'ailleurs de retrancher 5 à notre chiffre de passages.

Nous avons conservé la série R pendant près d'un an ; elle avait atteint, le 2 mars 1908, date à laquelle nous l'avons abandonnée, son 90e passage par souris.

Une variété de la même race, que nous appellerons J, a été obtenue en faisant agir l'atoxyl sur les trypanosomes d'une souris du 6e passage ; l'action du médicament a été faible (9 jours de retard sur le témoin ; les trypanosomes n'ont jamais complètement disparu de la circulation) ; les trypanosomes ont été pris sur cette souris 10 jours après l'injection d'atoxyl, alors qu'ils n'étaient plus sous l'action du médicament.

Cette variété diffère certainement peu de la précédente ; en tenant compte de cette intervention atoxylique, elle comporte 6 passages de moins par souris. C'est surtout avec elle que nous avons opéré ; nous l'avons gardée, sans nouveau contact avec l'atoxyl, jusqu à son 140e passage (5 septembre 1908).

Enfin, nous avons expérimenté aussi avec le virus précédent dont nous avons essayé de renforcer la résistance.

Nous sommes partis le 13 janvier 1908 de la 68e souris de passage du virus J. Une lignée latérale est instituée et, aux souris 1, 2, 4 et 5, on injecte de l'atoxyl un certain temps avant de prélever le virus pour le passage suivant. A partir de la 6e souris (1re de la série J_1), on ne donne plus d'atoxyl.

Nous avons conservé cette série depuis le 2 février jusqu'au 5 septembre 1908 à travers 67 passages par souris.

Pour la variété R, l'atoxyl, à la dose la plus élevée possible, s'est montré sans action aux 1er, 3e, 4e, 49e, 50e, 52e, 86e et 88e passages par souris. Aux 7e, 9e et 20e, la souris n'a eu qu'un retard de 24-48 heures, 3 jours au plus. Aux 2e, 5e, 6e, 14e passages, l'atoxyl a fait diminuer le nombre des trypanosomes, arrivant même à les faire disparaître momentanément de la circulation en 2 à 4 jours ; la souris a eu alors un retard de 6 à 10 jours sur le témoin.

Pour la variété J, l'atoxyl a été sans action aux 3e, 41e, 42e, 60e, 69e, 80e, 82e (chez 3 souris), 125e passages, presque sans action aux 1er, 2e, 12e, 59e, 66e, 89e passages. Aux 63e, 68e et 124e, les trypanosomes ont disparu de la circulation en 3 à 5 jours et le retard sur le témoin a atteint 10 jours.

Enfin, la variété J_1 s'est toujours montrée particulièrement résistante ; l'action de l'atoxyl a toujours été nulle ou presque nulle ; le retard le plus long a été de 4 jours.

Si nous ajoutons que le Dr Lafont a constaté que l'atoxyl guérissait d'emblée presque toutes les souris infectées avec son virus de Maurice, la résistance acquise du virus apparaîtra encore plus nettement.

On voit qu'à diverses reprises nos races ont montré une certaine sensibilité à l'atoxyl. Ces légères exceptions se sont manifestées irrégulièrement dans la série des passages ; pour la variété R tout au moins, elles paraissent avoir été plus fréquentes au début que plus tard. Dans tous les cas, elles n'indiquent nullement un retour de la race à sa sensibilité initiale à l'atoxyl et s'expliquent sans doute par des particularités individuelles des souris infectées.

Ehrlich et Browning ont noté, de leur côté, une certaine sensibilité de leur race quand on nourrit les souris infectées avec des cakes imprégnés d'atoxyl.

Nos 3 lignées, au moment où nous les avons abandonnées, étaient aussi résistantes qu'au début. Or nous avons conduit l'une d'elles jusqu'à son 140e passage par souris. Nous pouvons même dire que nous avons atteint un chiffre plus élevé, car nos lignées résistantes à l'émétique, que nous possédons encore, dérivent de celles résistantes à l'atoxyl et nous avons vérifié qu'elles continuent à se comporter comme auparavant vis-à-vis de l'atoxyl.

III

SPÉCIFICITÉ DES RACES RÉSISTANTES A L'ATOXYL

Ehrlich et ses collaborateurs ont montré la spécificité relative de leurs races : la résistance se manifeste pour tous les médicaments d'un même groupe chimique (par ex. : couleurs de benzidine, série du triphénylméthane) et non pour tous ceux d'un autre groupe. Ehrlich en donne un exemple frappant pour sa race résistante au Trypanrot ; il montre qu'elle est résistante à la couleur « Ph » de Nicolle et Mesnil qui pourtant diffère du Trypanrot à la fois par le composé basique (paradiamidodiphénylurée au lieu de benzidine monosulfonée) et par les chaînes latérales (acide H, c'est-à-dire amidonaphtol disulfo 1. 8. 3. 6, au lieu de β naphtylamine disulfo 2. 3. 6. = acide R).

Pour leur race résistante à l'atoxyl, Ehrlich et Browning se contentent de montrer qu'elle est également résistante au dérivé acétylé de l'atoxyl (arsénacétyle) que Ehrlich et Bertheim ont préparé et dont ils ont montré l'action remarquable (que nous pouvons confirmer) sur le Nagana des souris.

Notre arsénacétyle (1), essayé sur plusieurs souris infectées avec les virus R et J, à la dose de 2 centigrammes par 20 grammes de souris, s'est comporté exactement comme l'atoxyl lui-même. Il a eu une action nulle sur le 18e passage R et le 11e J, très faible sur les 9e, 16e et 19e passages R ; il amène les trypanosomes à disparaître momentanément en 2 et 4 jours avec les passages 6e J et 5e R (à ce passage, l'atoxyl a aussi fait disparaître les trypanosomes en 4 jours).

$$C^6H^4 \left\langle \begin{array}{l} NH^2\ (1) \\ AsO.\ OH.\ ONa\ (4) \end{array} \right. \qquad \text{Atoxyl}$$

$$C^6H^4 \left\langle \begin{array}{l} NH.\ CO.\ OCH^3\ (1) \\ AsO.\ OH.\ ONa\ (4) \end{array} \right. \qquad \text{Arsénacétyle}$$

$$C^6H^3 \left\langle \begin{array}{l} NH.\ CO.\ OCH^3\ (1) \\ CH^3 \\ AsO.\ OH.\ ONa\ (4) \end{array} \right. \qquad \text{Asodyl}$$

Le méthylacétylamidophénylarsinate de Na, dénommé *asodyl* par la maison Burroughs Wellcome et Cie de Londres qui le prépare (2), s'est comporté un peu différemment.

(1) Nous devions ce corps à l'obligeance de MM. G. Bertrand et Lanzenberg, qui, peu de temps après l'apparition du travail d'Ehrlich, nous en avaient préparé une solution neutralisée par la soude.

(2) Un échantillon de ce corps nous a été remis par l'intermédiaire de M. Giard.

Essayé sur le 124e passage (virus J), 1 gramme d'asodyl (pour une souris de 14 grammes) fait disparaître les trypanosomes en plus de 24 heures ; *ils ne reparaissent plus*. Une autre souris du même lot traitée à l'atoxyl (0 cgr. 3 pour 10 grammes) voit ses trypanosomes disparaître en 3 jours ; elle meurt avec 10 jours de retard sur le témoin.

Dans une expérience, en se servant du virus J, au 60e passage, alors que l'atoxyl (0cgr.3 pour 17 grammes) n'agit pas du tout, l'asodyl (1cgr,5 pour 20 grammes) fait tomber les trypanosomes à 0 en 24 heures; il y a rechute au bout de 6 jours. En revanche, le même virus J n'a été qu'à peine influencé par l'asodyl dans une autre expérience où 1 centigramme (pour une souris de 15 grammes) n'a donné à l'animal qu'une survie de 60 heures.

De même, nous avons vu l'asodyl employé vis-à-vis de notre virus résistant à l'atoxyl et à l'émétique, donner, dans une expérience, un retard de 11 jours sur la souris témoin et celle traitée à l'atoxyl ; dans une autre expérience, un retard insignifiant sur le témoin.

Il résulte donc de cet ensemble d'expériences que les races résistantes à l'atoxyl peuvent encore montrer une certaine sensibilité à l'asodyl.

Une question beaucoup plus intéressante est celle de la sensibilité aux sels minéraux d'arsenic (arsénites, trisulfure) des races résistantes à l'atoxyl. Ehrlich et Browning ne disent pas nettement avoir abordé la question (1). Elle est devenue d'actualité il y a un an, quand Lœffler et Rühs (2), confirmés depuis, à cet égard, par Weber et Fürstenberg (3), ont insisté sur les avantages de la médication combinée atoxyl-acide arsénieux, — et Laveran et Thiroux (4) sur l'association atoxyl-trisulfure d'arsenic (soit colloïdal, soit en pilules d'orpiment). Elle permet aussi d'apporter un argument important dans la question de savoir si l'atoxyl agit ou non comme arsenical.

Pour le trisulfure d'arsenic que nous avons employé à l'état

(1) Dans sa 3e *Harben Lecture*, EHRLICH, parlant des expériences faites avec sa race résistante à l'atoxyl, s'exprime ainsi : *Among hundreds of trypanocidal bodies, it is thus possible to single out those substances which contain arsenic.* Plus loin, revenant sur la question, il dit : Le radical acide arsénieux représente ici le point d'attaque commun aux séries de substances de la classe de l'atoxyl. — LOEFFLER ET RÜHS, à la fin de leur 1er mémoire (*Deutsche mediz. Woch.*, no 34, 1907), s'expriment ainsi : *Tiere, die mit Atoxyl lange Zeit, aber vergeblich behandelt und an relativ grosse Dosen des Atoxyls gewöhnt waren, haben prompt auf die neue Lösung* (solution d'arsénieux dans l'eau salée neutre) *reagiert.*

(2) *Deutsche mediz. Woch.* 1907, no 34; 1908, no 1 ; et aussi LOEFFLER, RÜHS et WALTER, *Ibid.*, 1908, no 34.

(3) *Deutsche mediz. Woch.*, 1908, no 28.

(4) *C. R. Acad. Sciences*, 4 nov. 1907, et *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXII, 25 février 1908.

de solution colloïdale (aimablement fournie par M. Victor Henri), les résultats ont été des plus nets. Nous avons surtout opéré avec le virus J vers le 60e passage. L'arsenic colloïdal, employé à la dose de 0 c. c. 35 d'une solution à 2 0/00 sur une souris de 20 grammes, fait disparaître les trypanosomes tantôt en moins de 24 heures, tantôt entre 24 et 48 heures. Certaines souris ainsi traitées ont guéri, d'autres ont eu des rechutes. En tout cas, les résultats ont été exactement les mêmes qu'avec notre Surra de l'Inde, qui est une race sensible à l'atoxyl. Il n'y a donc pas de doute, à notre avis, que les races résistantes à l'atoxyl ne le sont pas au trisulfure colloïdal.

Pour l'acide arsénieux, que nous avons employé soit à l'état d'arsénite de Na, d'après la formule qui a servi aux expériences anciennes de Laveran et Mesnil (1), soit à l'état de solution suivant la formule de Lœffler et Rühs, nos résultats sont moins nets. A la vérité, ces solutions ont rarement débarrassé le sang de ses trypanosomes et nous n'avons obtenu que des survies plus ou moins longues sur les témoins. Mais, comme les résultats ont été les mêmes avec le Surra de l'Inde et avec le Surra résistant à l'atoxyl, nous croyons pouvoir encore émettre la même conclusion que dans le cas du trisulfure, avec une certaine réserve, néanmoins (2).

Ces résultats expliquent donc les avantages des associations d'atoxyl (ou un autre corps de la série) avec un sel minéral d'As. Ils viennent à l'appui de la manière de voir formulée par Moore, Nierenstein et Todd (3) d'une part, Fourneau (4) de l'autre, que l'activité de l'atoxyl ne ressort pas d'un ion arsenical inorganique libre, mais d'un ion complexe contenant à la fois les radicaux arsenic et aniline.

Nous avons encore essayé sur notre race la couleur de benzidine » Cl » (dichlorobenzidine + acide H), à plusieurs reprises : pendant la constitution de la variété R ; aux 2e et 5e passages de cette variété ; au 59e passage de la variété J. Dans tous les cas, les trypanosomes ont disparu dans le temps normal et, comme c'est

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVI, 25 nov. 1902.

(2) *In vitro*, l'acide arsénieux est peu toxique pour les Trypan. En solution dans l'eau physiologique à 1 p. 1000 ou 1 p. 2000, mélangée à parties égales avec du sang à Trypan., il immobilise les parasites en 5 à 10 minutes, qu'il s'agisse d'une race résistante à l'atoxyl, ou d'une race normale.

(3) *Biochemical Journ.*, t. II, n° 5, 1907.

(4) *Bull. Sciences pharmac.*, n° 6, juin 1907.

la règle dans le Surra des souris, n'ont jamais reparu ; il y a eu guérison d'emblée.

Enfin, il y avait un intérêtthéorique et pratique tout particulierà essayer lasensibilité de notre race à l'émétique de K (dont nous venions de découvrir l'action). Notre première conclusion fut « qu'elle se comporte, vis-à-vis de l'émétique, exactement comme la race de Surra de l'Inde, qui est une race normale. En particulier, dans les 2 cas, la disparition des trypanosomes du sang a lieu en moins de 2 heures (1) ».

Une expérience plus étendue nous a amené à une *légère* atténuation de cette manière de voir : alors qu'on guérit à coup sûr les souris infectées de Surra de l'Inde, nous avons eu 2 échecs sur 22 cas avec la race résistante J et 2 *échecs sur* 3 *cas* avec la race renforcée J_1 (2). Plimmer et Bateman (3) ont noté de leur côté que, en se servant de trypanosomes résistants à l'atoxyl, il y a encore action de l'émétique, mais les résultats sont moins bons qu'avec une race ordinaire.

En définitive, la sensibilité de nos races à l'émétique n'est guère moindre que celle des races ordinaires de Surra. C'est là un fait intéressant à mettre en évidence si l'on songe à la parenté chimique de l'arsenic et de l'antimoine. A un autre point de vue, il y a là, comme nous le faisions remarquer dès notre première communication sur l'action de l'émétique, une raison théorique dassocier l'émétique à l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiases ; en tout cas, il n'y a aucune contre-indication à tenter l'émétique quand l'atoxyl n'agit pas ou n'agit plus.

IV

RACE DE SURRA RÉSISTANTE A L'ÉMÉTIQUE (4)

Dès le début de nos recherches sur l'action thérapeutique de l'émétique de potassium dans plusieurs trypanosomiases, nous avons visé l'obtention d'une race de trypanosomes résistante à ce médicament. Les rechutes étant fréquentes chez les souris naganées ainsi traitées, nous pensions que ce problème serait facile-

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. I, 22 janv. 1908.
(2) *Ibid,*, 8 avril 1908.
(3) *Proc. Roy. Soc.*, communic. du 25 août 1908.
(4) Mesnil et Brimont, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 9 mai 1908.

ment résolu avec le *Trypanosoma brucei*; nous avons bien constaté à diverses reprises qu'à la suite d'interventions médicamenteuses répétées les trypanosomes n'étaient plus influencés par l'émétique; mais, reportés sur une autre souris, ils manifestaient la même sensibilité que le virus ordinaire. C'est là un nouvel exemple de ces faits déjà fournis par l'étude de l'atoxyl que la résistance acquise à un médicament n'est pas toujours héréditaire.

Nous avons été plus heureux en partant de notre virus Surra de Maurice, au moment où nous renforcions sa résistance à l'atoxyl (voir ci-dessus variété J_1).

Une souris, infectée avec ce virus et traitée par l'émétique au moment où ses trypanosomes étaient excessivement nombreux, présenta des rechutes de plus en plus rapprochées (6 jours, 5 jours, 3 jours, 4 jours); la 5e injection fut sans effet sur les trypanosomes qui, inoculés à des souris de passages, gardèrent héréditairement leur résistance au médicament. (Pour la 3e souris de passage, le virus a été prélevé sur la seconde 24 heures après l'injection d'émétique). Encore aujourd'hui (12 octobre 1908), au 70e passage par souris, la propriété acquise de notre virus reste entière. Donné à la dose la plus élevée possible (0mgr,40 à 0,45 pour 20 grammes de souris), l'émétique est sans influence sur la marche de l'infection. Sauf sur une souris du 7e passage, chez laquelle les trypanosomes sont tombés à 0 en 48 heures et qui a eu une survie de quelques jours, nous n'avons pas observé les légères exceptions que nous signalions chez les souris infectées de trypanosomes résistants à l'atoxyl et soumises à ce médicament.

Préventivement, l'émétique n'a aucune action sur les trypanosomes résistants. En raison de l'action parasiticide directe que ce médicament exerce sur les trypanosomes, les inoculations étaient faites en 2 régions différentes du corps :

Trypanosomes	Emétique.
Sous la peau du dos	Péritoine.
id.	Cuisse.
Péritoine.	Peau du dos.

Les souris ainsi injectées sont mortes comme les témoins. Dans de pareilles conditions, l'émétique empêche toute infection par le Surra non résistant.

Nous avons aussi cherché à renforcer la résistance à l'émétique de notre race.

Une souris du 21e passage, infectée du virus résistant, reçoit, alors qu'elle renferme des trypanosomes nombreux, 0,4 milligrammes d'émétique ; le lendemain, on porte le virus sur une autre souris et, à partir du moment où

les trypanosomes sont assez nombreux, on injecte à cette souris, 4 jours consécutifs, une forte dose (0,35 milligrammes pour 14 grammes) d'émétique ; au moment de la mort, on fait un nouveau passage ; nous sommes actuellement au 45e passage (variété E_1).

Dans toutes les expériences dont nous avons rendu compte, comme dans celles d'Ehrlich et de ses collaborateurs, la résistance d'une race à un médicament est appréciée seulement *in vivo*. Il était naturel de songer à l'apprécier aussi *in vitro* et une pareille pensée ne pouvait manquer de venir à l'esprit d'Ehrlich. Il en parle dans la note de la p. 33 de ses « Etudes de chimiothérapie des trypanosomiases », en exprimant le regret de n'avoir pu la réaliser (1). Plus tard (2), partant d'une race résistante à l'atoxyl, il a renforcé cette résistance en se servant d'une nouvelle combinaison arsenicale très active qu'il appelle *trypocide*, et qui agit *in vitro* à des concentrations de 1 p. 500. Or, les trypanosomes résistants *in vivo* à ce trypocide, sont *plus sensibles* à ce composé que les trypanosomes normaux. Ehrlich pense qu'il y a eu, chez les trypanosomes, vis-à-vis du trypocide, développement simultané d'immunité (constatable *in vivo*, et d'hypersensibilité (constatable *in vitro*).

L'émétique a, contrairement à l'atoxyl et aux couleurs de benzidine, la propriété d'agir énergiquement *in vitro* sur les trypanosomes. Par exemple, les trypanosomes appartenant à une race de Surra non résistante à l'émétique, sont immobilisés instantanément quand on mélange à parties égales du sang trypanosomié et une solution d'émétique pulvérisé à 1 0/00 dans l'eau physiologique citratée.

Notre découverte de races résistantes à l'émétique a pu nous permettre de démontrer que *la vaccination du Trypanosome se traduit par une plus grande résistance* in vitro. Une constatation analogue a été faite plus tard, avec notre race résistante à l'atoxyl, par l'un de nous (Brimont) en collaboration avec Levaditi et Yamanouchi, en se servant du *trypanotoxyl* découvert par ces deux savants (3); ce qui a fourni une des meilleures preuves

(1) « ... Ein Teil der Substanzen, z. B. das Atoxyl, auf die Parasiten im Reagensglase keine direkt abtötende Wirkung ausübt, während andere, z. B. die Fuchsine zwar diese Fähigkeit besitzen, aber in den nichtsterilisierenden Dosen eine sehr störende Abschwächung der Parasiten hervorrufen. »

(2) Voir *The Harben Lectures for* 1907, édition parue à Londres en mai 1908, p. 51-52.

(3) Levaditi et Yamanouchi, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXV, 4 juill. 1908, p. 23 ; Levaditi, Brimont et Yamanouchi, *Ibid.*, p. 25.

que ce trypanotoxyl (produit de réaction du foie sur l'atoxyl) est bien le principe actif de l'atoxyl dans l'organisme.

La constatation *in vitro* de la résistance ou de la vaccination d'un trypanosome a, au moins dans le cas de l'émétique, un autre intérêt. C'est qu'elle permet d'avoir une idée approchée de la résistance réelle d'une race de trypanosomes. Sensibilité et résistance à un médicament ne sont en effet que des termes d'appréciation; ils n'ont qu'une valeur relative qu'il est bon de pouvoir évaluer.

In vivo, en effet, il est impossible d'apprécier la résistance réelle qu'a acquise la race de trypanosomes. La dose efficace qui fait disparaître les trypanosomes ordinaires de l'organisme infecté ne peut guère être augmentée, car on arrive immédiatement à la limite de tolérance de l'organisme devant l'émétique. Tout au plus, peut-on, *in vivo*, avec les trypanosomes ordinaires, établir le rapport entre la dose efficace d'émétique qui les tue et la dose maxima qui n'agit plus sur eux.

Avec l'émétique, ce rapport est de 10 environ.

Une souris de 15 grammes, infectée de Surra de l'Inde, ne recueille aucun bénéfice de l'injection de 0mgr,03 d'émétique ; une autre du même poids guérit d'emblée par l'injection de 0mgr,30; il en est de même d'une souris qui ne reçoit que 0mgr,1. Or, la dose de 0mgr,30 (= 10 fois la dose non active vis-à-vis du virus ordinaire) est la dose maximale que l'on peut donner à une souris de 15 grammes à virus résistant.

On obtient le même rapport 10 avec l'atoxyl.

In vitro, l'inconvénient signalé *in vivo* n'existe plus. On comparera alors les doses de médicament qui immobilisent dans le même laps de temps, d'une part les trypanosomes ordinaires et d'autre part les trypanosomes résistants. Il est bon d'opérer avec des parasites prélevés au moins vingt-quatre heures avant la mort de l'animal infecté ; quand ils sont extrêmement nombreux dans le sang, ils deviennent, comme on le sait, beaucoup plus fragiles. Il est encore indiqué d'opérer avec des solutions agissant en un temps aussi court que possible. Les trypanosomes ont en effet des résistances individuelles assez variables ; donc, moins la solution employée est concentrée et par conséquent plus la durée d'action est longue, plus les causes d'erreur sont possibles. Le mieux serait d'opérer avec des solutions immobilisant instantanément les trypanosomes, mais nous avons été arrêtés par la trop

grande résistance de notre nouvelle race aux solutions les plus concentrées dont nous nous sommes servis.

En tenant compte de ces remarques, les résultats obtenus acquièrent une grande constance, qui prouve la valeur de la méthode.

Avec la race initiale résistante à l'atoxyl, mais pas à l'émétique, on a les résultats suivants :

1 gtte sang à trypan.	+ 1 g. émétique à 1 p. 1000		. . . .	Immobilisation immédiate.
1 Id.	+ 1	Id.	+ 1 goutte eau cit. . .	Imm. en 20 à 40 min.
1 Id.	+ 1	Id.	+ 1 g. eau cit. . .	Imm. en 1 h. à 1 h. 1/4.
1 Id.	+ 1	Id.	+ 5, 8 ou 12 g. eau cit.	Imm. en 1 h. 1/2 à 1 h. 3/4.

Les Trypanosomes conservés en eau citratée restent très mobiles tout le temps que dure l'expérience.

Les résultats sont les mêmes avec les virus Surra de l'Inde et Surra de Nha-Trang (Annam), Nagana du Togoland et du Zoulouland, qui ne montrent aucune résistance particulière aux médicaments.

Avec la race résistante à l'émétique, l'addition de 1 goutte d'émétique à 1 0/00 à 1 goutte de sang est sans action sur les trypanosomes. Avec cette race, nous avons surtout employé une solution isotonique au sang, titrée à 5 grammes d'émétique pour 1000 d'eau salée citratée :

Emétique : 0,50 ; — NaCl : 0,42 ; — Citrate de Na : 1 ; — Eau : 100.

1 g. sang à trypan. + 1 gtte	émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 1 heure en moy.
1 g. sang à trypan. + 5 g.	émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 45 min. en moy.
1 g. sang à trypan. + 10 g.	émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 25 min. en moy.
1 g. sang à trypan. + 15 g.	émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 15 min. en moy.
1 g. sang à trypan. + 20 g.	émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 15 min. en moy.
1 g. sang à trypan. + 30 g.	émétique à 5 p. 1000.	Immob. immédiatement.

Avec la race à résistance renforcée (E_1), même en ajoutant 40 gouttes de la solution, on n'obtient pas l'immobilisation immédiate des trypanosomes.

Nous nous sommes servis aussi d'une solution d'émétique de K dans l'eau distillée à 5 ou 6 0/00 ; elle est à peu près isotonique au sang. En mélangeant goutte à goutte le sang à trypanosomes et la solution en question, on obtient l'immobilisation en 5 minutes avec la variété E. en 8 minutes avec la variété E_1. Il faut encore employer 8 à 10 gouttes d'émétique pour arriver à l'immobilisation immédiate.

Si l'on compare les titres et les quantités des solutions qui donnent l'immobilisation immédiate, on arrive à un chiffre au

moins égal à 300 que nous pouvons regarder comme la *mesure de la résistance.*

Les comparaisons d'actions immobilisantes au bout de temps égaux (vingt-cinq minutes par exemple) donnent des chiffres moins élevés. Mais nous pouvons dire que la résistance de notre race est au moins égale à 150.

En possession de cette méthode, il est possible de suivre les variations d'une race, d'assister à sa genèse et, par suite, de chercher à l'enrayer.

On a remarqué que la race résistante à l'atoxyl était aussi sensible à l'émétique qu'une race ordinaire de Surra. Les résultats *in vitro* concordent donc avec ceux obtenus *in vivo.*

Vis-à-vis de l'émétique de Na (dont nous devons un échantillon à la complaisance de M. Plimmer), notre race E se comporte *in vivo* et *in vitro* comme avec l'émétique de K.

APPENDICE. — *Sensibilité naturelle de diverses espèces de trypanosomes à l'émétique.* — Nous avons, dans nos travaux spécialement consacrés à la thérapeutique des trypanosomiases par l'émétique, insisté sur les différences au point de vue de la durée de disparition des trypanosomes. Mais avec presque tous les virus essayés, la désinfection du sang de souris était complète au bout de 2 heures. *In vitro*, ces trypanosomes sont détruits immédiatement quand on mélange 1 goutte de sang avec 1 goutte d'une solution à 1 0/0.

Dans le cas du *T. dimorphon*, les trypanosomes mettent plusieurs heures à disparaître du sang, et il y a toujours rechute rapide. L'essai *in vitro* n'a pourtant pas révélé une grande différence avec les autres virus; avec le *dimorphon* (et aussi avec le *congolense*, qui en est si voisin), le mélange indiqué immobilise en 1/2 minute.

La différence est plus importante avec le *T. pecaudi* (1). Le mélange ne produit l'immobilisation qu'en 10 à 15 minutes. Même le mélange à parties égales de sang et de la solution d'émétique à 5 0/00 n'immobilise qu'en 1 à 2 minutes ; en ajoutant 3 gouttes à une goutte de sang, les trypanosomes sont arrêtés en une demi-minute. *In vivo*, l'émétique n'agit pas très bien sur les infections à *T. pecaudi* : désinfection du sang en plusieurs heures; rechute constante à 5 à 6 jours.

(1) Nous nous sommes servis d'un virus rapporté de Bakel par MM. Bouffard et Neveux et provenant de la rive gauche du Sénégal.

Le *T. lewisi*, conservé sur rats blancs, mérite une mention spéciale. Aucun médicament ne réussit à l'atteindre. Aussi n'avons-nous pas été très étonnés de constater qu'il en était de même de l'émétique. Même donné à la dose maxima pour le rat, il n'y a aucune action sur les trypanosomes, que l'on retrouve aussi nombreux dans le sang les jours suivants. *In vitro*, ce trypanosome est tout à fait comparable à notre race résistante.

I 1 goutte de sang + 1 goutte émét. à 6 0/0. Immob. en 5 minutes.
1 goutte de sang + 5 gouttes émét. à 6 0/0. Immob. en 5 minutes.
II. 1 goutte de sang + 1 goutte émet. à 5 0/0. Immob. en 7 minutes.

Ces faits illustrent bien le rapport entre la résistance naturelle ou acquise, *in vivo* et *in vitro* (1).

V

LES VIRUS RÉSISTANTS CHEZ LE RAT (2)

Les particularités des races résistantes à l'atoxyl chez la souris que nous avons signalées dans le § II de ce mémoire, semblent indiquer que la résistance a besoin pour se *manifester* d'une certaine participation de l'organisme. En portant le virus sur une autre espèce animale, ce phénomène va apparaître très nettement. Chez le *rat* en effet, la résistance, en particulier à l'atoxyl, se manifeste mal.

Par exemple, un rat de 170 grammes, infecté avec du virus J du 67e passage, voit ses trypanosomes disparaître en 24 heures par une injection de 4cgr,25 d'atoxyl pour ne plus reparaître. Chez deux autres rats de 175 et 230 grammes, infectés du même virus du 68e passage, les trypanosomes disparaissent également en 24 heures à la suite d'injections de 4cgr,20 et 5 cgr,50 Mais, dans ces cas, il convient de remarquer que la dose a été de 2cgr.50 par 100 grammes, ce qui est proportionnellement une dose un peu forte pour les souris. Pourtant, une souris témoin des 2 derniers rats, qui a reçu 0cgr,4 pour 17 grammes, n'a survécu que quelques heures à une souris non traitée.

(1) Ces recherches sur le *T. lewisi*, faites en juin dernier, postérieusement à la publication de notre note préléminaire, étaient restées inédites. BRODEN et RODHAIN, dans leur intéressant travail sur le traitement de la trypanosomiase humaine (*Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, t. XII, 2e fasc. de juill. 1908), ont noté de leur côté, avec étonnement, disent-ils, la grande résistance *in vitro* du *T. lewisi* à l'émétique ; *in vivo*, les trypanosomes ont mis plus de 24 heures à disparaître de la circulation. Nous sommes persuadés qu'il y a eu coïncidence et que la disparition n'est pas due à l'émétique.

(2) MESNIL et BRIMONT, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 11 avril et 9 mai 1908.

La différence entre rats et souris apparaît donc déjà nettement. C'est pour chercher à la rendre encore plus évidente que nous avons constitué notre race renforcée (J_1) et que nous avons réduit à 2 cgr. pour 100 grammes la dose d'atoxyl. Dans ces conditions, alors que le virus se montrait plus rigoureusement résistant chez la souris, l'atoxyl a toujours amené la disparition des trypanosomes chez le rat, mais une certaine résistance s'est néanmoins manifestée : ainsi, les trypanosomes n'ont pas toujours disparu du sang en 24 heures ; parfois, il a fallu un temps plus long : il y a eu des rechutes fréquentes (tous les 3 à 6 jours) justiciables à la vérité d'un nouveau traitement ; finalement, le rat succombe après une série de rechutes. Certains ont pu être guéris par l'émétique.

En tout cas, la différence est frappante dans la façon dont se comporte le virus chez la souris, où l'atoxyl est en général totalement impuissant, et chez le rat où, d'une façon constante, il débarrasse le sang de ses trypanosomes pendant plusieurs jours.

Les rats chez lesquels nous avons fait agir l'atoxyl avaient été infectés : les premiers en partant des souris qui servaient à la préparation du virus J_1 et dont la résistance avait été déjà renforcée par 2 injections d'atoxyl ; les suivants étaient des rats de passage à partir des premiers. Nous avons ainsi conservé le virus sur rat jusqu'au 43e passage, c'est-à-dire pendant 157 jours. Durant tout ce temps, le virus est resté semblable à lui-même au point de vue de sa résistance : celle-ci s'est manifestée faiblement (v. *supra*) chez le rat, d'une façon ordinaire chez la souris. Cette dernière constatation est particulièrement intéressante et nous l'illustrerons par l'expérience suivante :

Le virus, au 40e passage, est reporté sur souris.

Une souris de 13 grammes reçoit 0cgr,20 d'atoxyl et n'en recueille aucun bénéfice.

Une souris de 14 grammes reçoit 0cgr,25 d'atoxyl, et a 48 heures de survie sur le témoin.

(Le même atoxyl, à la dose de 0cgr,35 pour 18 grammes, guérit une souris infectée de Surra de l'Inde.)

En revanche, chez le rat au 41e passage, l'atoxyl, à la dose de 1cgr,75 et de 2cgr,50 pour 100 grammes, fait disparaître les trypanosomes en 48 heures environ, et le sang reste débarrassé pendant plusieurs jours.

On pouvait se demander s'il existe chez le rat une impossibilité de nature organique à la manifestation de la résistance. Il n'en

est rien : la race a simplement besoin de s'habituer à l'atoxyl dans l'organisme même du rat. Nous sommes partis d'un rat du 2e passage (v. ci-dessus). Ce rat a présenté des rechutes successives ; les 6 premières ont été justiciables de l'atoxyl ; mais à partir de la 7e, 3 doses successives d'atoxyl n'ont pu en avoir raison. Ces trypanosomes portés sur d'autres rats et, par comparaison, sur d'autres souris, se sont montrés, chez les 2 espèces, résistants : la souris n'a pas survécu à son témoin; le rat a montré une faible survie Nous avons jugé inutile de prolonger les expériences.

Quand nous avons été en possession de notre race résistante *à l'émétique* chez la souris, nous avons cherché si elle la manifestait au même degré chez le rat. Dans ce cas encore, il y a des différences entre les deux Rongeurs.

Si on donne à un rat infecté 2 milligrammes d'émétique pour 100 grammes (ce qui est, proportionnellement au poids, la même dose que chez la souris), on voit les trypanosomes rester stationnaires comme nombre, puis diminuer (sans disparaître complètement) pour réaugmenter ensuite; le rat meurt avec quelques jours de retard sur le témoin. Quand on porte la dose à 3 milligrammes par 100 grammes, on peut arriver à faire disparaître momentanément les trypanosomes de la circulation périphérique. La différence entre le rat et la souris est encore indéniable; mais ici, la résistance, même chez le rat, est bien plus marquée que dans le cas de l'atoxyl.

La race résistante à l'atoxyl (J_1, 9e passage par souris), portée sur le *chien*, y manifeste encore sa résistance.

1 centigramme d'atoxyl par kilogramme de chien n'a aucune action sur les trypanosomes.

En portant le même virus, au 15e passage, sur un autre chien, on obtient le même résultat négatif en donnant la dose indiquée, à 2 reprises. [A la vérité, cette dose de 1 centigramme par kilogramme est relativement faible ; mais on ne peut guère la dépasser, étant donnée la grande sensibilité des chiens à l'atoxyl, déjà mise en relief dans le mémoire fondamental de Thomas.]

Chez le *cobaye*, on observe des faits analogues.

L'atoxyl est donné à la dose de 1cgr,5 pour un cobaye de 400 à 450 gr. Cette dose fait régulièrement disparaître les trypanosomes du Surra de l'Inde (race non résistante) en moins de 24 heures et la rechute survient très tardivement. Chez les cobayes inoculés avec le virus J_1, nous avons constaté qu'une première dose ne faisait jamais disparaître les trypanosomes en 24 heures, mais toujours en 48 heures (1) et que les doses suivantes ne les faisaient même plus disparaître du tout.

(1) Ce résultat, obtenu 4 fois sur 4, n'est peut-être pas dû à un hasard de coïncidence avec une crise. Il indiquerait une faible sensibilité, non comparable, en tout cas, à celle que l'on observe chez le rat, car, aux injections suivantes, l'atoxyl ne fait plus disparaître les trypanosomes.

Repris chez le *chien*, le trypanosome a conservé toute sa résistance chez la souris.

Ces résultats, brièvement indiqués dans nos notes préliminaires, en particulier la première, ont été depuis confirmés par les publications de l'École de Liverpool.

Moore, Nierenstein et Todd (1), en se servant d'une race de *T. brucei* envoyée par Ehrlich, ont constaté, indépendamment de nous, que sa résistance à l'atoxyl (et à l'arsénacétyle), manifeste chez la souris, ne l'est plus chez le rat. Une race, obtenue résistante à l'atoxyl chez le rat, ne l'est ni chez la souris ni chez le chien.

Breinl et Nierenstein (2) citent de leur côté des faits de même ordre. On produit assez facilement (en moyenne après 3 mois 1/2 de traitement) des races résistantes à l'atoxyl chez les ânes. Une pareille race, portée chez le rat, s'est montrée faiblement résistante au 1er passage, plus du tout au second. Reportée sur âne après 14 passages par lapins, cobayes et rats, elle s'y est montrée à nouveau résistante. On n'a pu faire disparaître les trypanosomes qu'en employant l'émétique de sodium.

Ces savants croient qu'une race ne manifeste sa résistance à l'atoxyl que chez l'espèce animale dans laquelle elle a été créée. Nos observations ne corroborent pas cette manière de voir. Elles montrent que la résistance acquise chez le cheval se manifeste *de suite* chez la souris et y atteint même un maximum au-dessus duquel l'évaluation n'est plus possible, eu égard à la limite de toxicité de l'atoxyl. Chez le cheval, un pareil maximum n'était pas atteint puisqu'on a pu faire disparaître à nouveau les trypanosomes en augmentant la dose. En plus, nous avons vu que la résistance ne se manifeste pas que chez la souris.

Si les résultats de Liverpool étaient exacts, il serait extrêmement difficile, sinon impossible, de se rendre compte expérimentalement si, comme conséquence d'un traitement, la résistance à un médicament apparaît. Une pareille recherche aurait pourtant un haut intérêt chez un homme atteint de trypanosomiase et qu'on soumet à un long traitement. Ehrlich a bien supposé que c'est à l'apparition d'une résistance à l'atoxyl que sont dus les échecs finaux de Kopke et celui-ci s'est rallié à cette conception.

(1) *Ann. of trop. Med. a. Parasit.*, t. III, juill. 1908.
(2) *Deutsche mediz. Woch.*, 1908, n° 27.

A vrai dire, c'est là une hypothèse fort plausible, mais toute gratuite. Il serait bien intéressant de savoir si oui, ou non, elle peut être soumise au contrôle de l'expérience.

Quoi qu'il en soit de ces divergences, nos résultats, sur un point qui nous paraît capital au point de vue biologique, s'accordent avec ceux de Liverpool. *Une race résistante chez une espèce donnée* (pour nous la souris, pour eux l'âne) *reste résistante même après un grand nombre de passages par une ou plusieurs espèces chez lesquelles la résistance ne se manifeste pas ou se manifeste incomplètement.* Il faut nécessairement en conclure que *la résistance est une propriété biologique liée au trypanosome.* (Cette propriété apparaît d'une façon concrète dans les expériences *in vitro* avec les races résistantes à l'émétique.) Nos expériences comparées chez le rat et la souris prouvent en plus que le milieu-hôte a une grande importance ; pour être exact, il faut dire que la race est résistante *dans un organisme donné.*

Il doit donc y avoir participation de l'organisme pour la manifestation de cette résistance. Dans notre première note où nous n'envisagions que le cas de la résistance à l'atoxyl, nous avions rapproché nos constatations de ce fait que « l'atoxyl n'agit pas directement sur les trypanosomes à la façon d'un antiseptique et que la trypanolyse n'a lieu qu'à la suite d'une participation de l'organisme ». Depuis, Levaditi et Yamanouchi ont précisé dans une certaine mesure cette participation de l'organisme en montrant que l'extrait de foie transformait l'atoxyl, inactif *in vitro* sur les trypanosomes (comme Mesnil et Nicolle l'ont dit les premiers), en un corps très actif. Les trypanosomes, vaccinés contre le trypanotoxyl fabriqué dans le corps de la souris, peuvent ne pas l'être contre celui du rat. Pourtant, nous devons dire que cette manière de voir ne doit renfermer qu'une part de vérité puisque le phénomène de *la différence de résistance suivant l'espèce animale* est encore apparent, bien qu'à un moindre degré, avec les races résistantes à l'émétique et il s'agit dans ce cas d'un médicament qui paraît n'avoir guère besoin de la participation de l'organisme pour manifester son action.

VI

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Nous possédons, depuis le début d'avril 1907, une race résistante à l'atoxyl que nous conservons encore sous sa forme résistante à l'émétique ; cela fait, au 1er novembre 1908, 17 mois et en tout plus de 150 passages par souris. Or chaque passage représente un certain nombre de bipartitions successives de trypanosomes qui ne peut être moins de 5, mais que l'on peut *supposer* être au moins 10 (1). Par conséquent, les 150 passages nous donnent *au moins* 1,500 bipartitions ou générations successives. Depuis que la race est résistante à l'émétique, il s'est accompli la moitié de ce chiffre de bipartitions.

Ehrlich, au début de 1907, avait, entre autres, une race résistante à la parafuchsine depuis 18 mois qui en était à son 180e passage par souris et une autre résistante à l'atoxyl depuis 15 mois qui en était à son 138e passage.

Ehrlich, le premier, a parlé, pour ces races résistantes, d'hérédité de caractères acquis. L'assimilation nous paraît exacte. Mais, pour la rigueur, il convient de ne tenir compte que du chiffre de générations successives de trypanosomes n'ayant plus eu de contact avec le médicament. A cet égard, nous pouvons citer notre race J que nous avons conservée, toujours résistante à l'atoxyl, à travers 125 passages au moins par souris, ce qui représente plus de 1,250 générations de trypanosomes et notre race E qui n'a cessé d'être résistante à l'émétique à travers 70 passages par souris. Erhlich cite le cas d'une race qui avait conservé sa résistance à l'atoxyl à travers 103 passages par souris ; c'est sans doute la même que Browning cite comme étant à son 150e passage.

A côté de ces cas, il en est d'autres, comme ceux de notre race de *gambiense*, résistante à la couleur Ph, et comme ceux de diverses races, citées par Ehrlich, lesquelles, après un certain nombre de passages, perdent leur résistance.

(1) En admettant que *tous* les trypanosomes injectés avec le 20e de c. c. de sang qui, en général, sert à faire un passage, évoluent pour donner les trypanosomes aussi nombreux dans les 2 c. c. de sang d'une souris, on a un rapport de 40 qui est voisin de la puissance 5e de 2. Ce chiffre de 5 peut être voisin de la réalité quand on pratique des inoculations intrapéritonéales ; il ne l'est certainement pas quand on fait les inoculations sous la peau, comme c'était notre cas.

Etant donné le grand nombre de générations déjà atteint par certaines races, on a le droit de parler de races stables conservant indéfiniment les caractères acquis en l'absence de la cause agissante. Ehrlich les compare aux Oscillariées étudiées par Engelmann et Gaidukow, lesquelles, en poussant en lumière colorée, acquièrent des caractères de couleur qu'elles reproduisent héréditairement dans leurs nouveaux articles quand on les remet en lumière blanche. La comparaison mérite aussi d'être faite avec les vaccins pastoriens, le charbon asporogène, etc. Nous la poursuivrons dans un prochain mémoire avec les microbes (et en particulier les trypanosomes) vaccinés contre des anticorps.

Un autre caractère mis en évidence par Ehrlich est que les animaux infectés par une de ces races n'ont, durant la période qui suit immédiatement la désinfection de l'organisme par un médicament, l'immunité que pour la race en question. On a là affaire à des *espèces secondaires* et il serait intéressant de connaître les conditions exactes de leur genèse. La propriété de résistance semble apparaître graduellement et non brusquement. On n'aurait donc pas affaire à ces mutations dont on a déjà signalé un certain nombre d'exemples chez les microbes (1) ; mais de nouvelles recherches dans cette voie sont encore indiquées.

Remarquons enfin que les générations de trypanosomes qui se succèdent chez les animaux de passage sont asexuées. Peut-être cette particularité contribue-t-elle à la conservation du caractère. Ehrlich s'est demandé ce qu'il adviendrait de ces races en passant par l'hôte intermédiaire. Nous posons la même question en faisant remarquer qu'il est au moins possible qu'intervienne une reproduction sexuelle chez cet hôte, Glossine ou autre insecte.

(1) R. Koch (*Deutsche mediz. Woch.*, 17 nov. 1904) pense que les trypanosomes pathogènes (*T. brucei, evansi, equinum, gambiense*) sont des espèces non fixées, en voie de *mutation*, au sens de de Vries. Cette assimilation aux faits de de Vries nous paraît fort discutable.

L'Aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets.

(*Suite et fin.*)

PAR M. A. TRILLAT

TROISIÈME PARTIE

Rôle de l'aldéhyde acétique dans quelques modifications du vin : Vieillissement, jaunissement et amertume

1. VIEILLISSEMENT

L'analyse d'un vin vieux démontre que sa composition a beaucoup varié. Le poids de ses matières fixes a diminué ainsi que l'alcool, tandis que ses éthers ont augmenté. Le vieillissement du vin est en outre accompagné d'un dépôt plus ou moins abondant de matière colorante, en même temps que d'une décoloration et d'un virage de la teinte primitive.

La réunion des substances volatiles qui se sont formées au cours du vieillissement dans les vins et les eaux-de-vie constitue ce qu'on appelle *le bouquet*. On ne sait jusqu'à présent rien de précis, ni sur sa composition, ni sur les réactions chimiques qui lui ont donné naissance. Il est connu cependant que le parfum du bouquet dépend d'un grand nombre de facteurs qui entrent en jeu, tels que le cépage, le mode de vinification, la composition du moût, etc. D'après Rosenstiehl[1] le bouquet des vins subirait l'influence de la température de stérilisation du moût et de la fermentation.

Pasteur a montré que le vin ne vieillissait pas lorsqu'on le maintenait à l'abri de l'air. D'après lui, l'oxydation en bouteilles provient uniquement de l'air en dissolution dans le vin à la faveur des soutirages antérieurs à la mise en bouteilles. Il en concluait que la combinaison de l'oxygène avec le vin était

1. ROSENSTIEHL, *C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1908, p. 1224 et 1417.

l'acte essentiel du vieillissement. Duclaux avait également démontré, de son côté, que le vin ayant subi le contact de l'air pouvait vieillir en bouteilles hermétiquement bouchées, grâce à cette réserve d'oxygène emmagasinée.

D'après les résultats d'expériences exposées précédemment, on peut prévoir que ce contact prolongé de l'oxygène avec le vin doit augmenter les proportions d'aldéhyde en même temps que favoriser ses combinaisons.

C'est bien, en effet, ce que l'on peut tout d'abord constater dans les vins vieux et les eaux-de-vie. Le dosage comparatif effectué par les deux méthodes que j'ai indiquées plus haut prouve qu'il s'est formé, au cours du vieillissement, des combinaisons aldéhydiques fixes qui n'existaient qu'en petite quantité, ou pas du tout avant le vieillissement.

Les chiffres d'aldéhyde du tableau suivant représentent la différence entre l'aldéhyde totale et l'aldéhyde libre : ils correspondent donc à l'aldéhyde combinée, formée au cours du vieillissement.

TABLEAU XVI

PRODUITS ANCIENS	ALDÉHYDE régénérée en milligr. 0/00	PRODUITS NOUVEAUX	ALDÉHYDE régénérée en milligr. 0/00
Chambertin 1894.....	95	Vin de Bordeaux 1907.	35
Vouvray 1895........	70	Bordeaux 1907........	Néant.
Beaune Hospice 1885.	112	Bourgogne 1907......	Néant.
Vouvray 1900........	120	Coupage.............	Néant.
Eau-de-vie 1898......	85	Eau-de-vie 1906......	70
Wisky 1895..........	95	Eau-de-vie 1907......	80
Xérès 1890...........	142	Xérès 1908...........	18

J'ajouterai que des résultats semblables ont été trouvés par M. Barbet fils, qui en fait le sujet d'un intéressant travail[1].

CONCLUSION

On voit par la comparaison de ces chiffres que les vins vieux et les eaux-de-vie anciennes possèdent une plus grande proportion d'aldéhyde combinée que les vins et eaux-de-vie de

1. Congrès de sucrerie, distillerie et œnologie, avril 1908.

date récente. Il y a donc eu formation d'aldéhyde au cours du vieillissement.

***

Je vais maintenant examiner le rôle de l'aldéhyde acétique dans les principales modifications qui accompagnent le vieillissement, c'est-à-dire :

1° Dans la formation du bouquet ;

2° Dans celle du dépôt ;

3° Dans le changement de couleur.

a) *Formation d'acétals.*

Le premier auteur qui ait signalé la présence d'acétals dans les vins vieux est Doebreiner, qui l'avait retiré des produits de distillation d'une grande quantité de vins vieux [1].

Plus tard, Geuther [2] en trouvait dans l'alcool brut. Kraemer et Pinner [3] le signalèrent comme produit accessoire de la distillation de l'alcool. En effet, ces deux chimistes, en opérant sur 1500 litres avaient pu obtenir un liquide passant à 103-105° auquel ils attribuèrent la composition de l'acétal éthylique.

On sait que les aldéhydes ont la propriété de se combiner aux alcools avec élimination d'une molécule d'eau pour former des acétals d'après la formule générale :

$$R.\ C^nH^{2n}O + 2R\ OH = H^2O + C^nH^n\left\langle\begin{matrix}O.R\\ \\ O.R\end{matrix}\right.$$

Cette condensation se fait très lentement à la température ordinaire, sous l'influence d'une très faible acidification, comme celle qui existe normalement dans le vin. La présence de certains corps, jouant le rôle de substances de contact, favorise beaucoup la réaction : cette observation nous a même permis, à M. Cambier et à moi [4], de publier un procédé de préparation de dérivés méthyléniques, utilisé aujourd'hui dans les laboratoires.

Enfin, j'ai moi-même à plusieurs reprises fait observer que

1. *Doebreiner*. G. M. 4, 805.
2. *Annalen der Chem*. 126, 63.
3. *Berichte des deut. Chem. Ges.*, 2403; 4, 787.
4. *Bull. de la Soc. Chim.*, 1894, p. 752 et 817.

la formation d'aldéhyde par l'oxydation des divers alcools de la série grasse, sous l'influence de substances de contact, s'accompagnait toujours d'une petite quantité de l'acétal correspondant à l'alcool[1].

Retenons de ces observations que l'acétal peut se former avec une grande facilité chaque fois que l'aldéhyde et l'alcool se trouvent en présence.

La formation des acétals est démontrée indirectement par la disparition lente de l'aldéhyde *libre*, quand elle est mélangée avec l'alcool. J'ai effectué sur ce sujet une série d'essais en collaboration avec M. Rougelet-Delâtre : les expériences ont consisté à placer à l'abri de l'air, pour éviter des erreurs provenant de l'acétification des mélanges d'aldéhyde, d'alcool et d'eau. L'aldéhyde était dosée au début de l'expérience, et on constatait peu à peu sa disparition par des dosages pratiqués tous les quinze jours. Voici un exemple de disparition sur une solution alcoolique d'aldéhyde au centième.

TABLEAU XVII

SOLUTION ALCOOLIQUE contenant 500 milligr. d'aldéhyde acétique par litre.	ALDÉHYDE DISPARUE en milligr.	ÉVALUATION en acétal correspondant en milligr.
Début : 500 milligr......	0	0
Après 15 jours..........	120	324
Après 1 mois...........	300	810
Après 2 mois...........	350	945

Ces essais ont été fait sur des proportions assez considérables d'aldéhyde pour permettre de remplacer les méthodes colorimétriques par la méthode volumétrique de Seyewetz et Lumière[2].

M. Rocques a également fait quelques essais, sur ma demande, et constaté que l'aldéhyde s'acétalisait lentement en chauffant un mélange d'aldéhyde, d'alcool et d'eau.

Dosage de l'acétal. — Le dosage de l'acétal dans les vins vieux et les eaux-de-vie présente de grandes difficultés, parce qu'on se

1. *Bull. de la Soc. chim.* 1905.
2. *Bull. de la Soc. chim.* 1903, p. 35.

trouve en présence d'une quantité indéterminée d'aldéhyde libre, provenant de la dissociation partielle de l'acétal au cours de la distillation. D'autre part, les réactifs ont la même action sur l'acétal que sur l'aldéhyde et la différenciation devient impossible.

Mais on peut avoir une idée approximative de l'acétal contenu dans un vin ou une eau-de-vie en utilisant les méthodes analytiques indiquées plus haut[1] et en traduisant en acétal éthylique l'aldéhyde trouvée par différence de l'aldéhyde libre déduite de l'aldéhyde totale. Voici à titre d'exemple les résultats fournis par des vins vieux de provenances diverses :

TABLEAU XVIII

NATURE DU VIN	ALDÉHYDE COMBINÉE évaluée en acétal $C^2H^4 < {OC^2H^5 \atop OC^2H^5}$
Beaune Hospice 1890	150 milligr.
Bordeaux 1892	180 —
— 1893	190 —
Cognac fin bois 1895	200 —
Wiskey 1905	320 —

Ces poids élevés d'acétal s'expliquent, étant donné que l'aldéhyde donne plus de 2 fois et demie son poids d'acétal avec l'alcool éthylique, et plus de 5 fois avec les alcools en C^8.

J'ai fait observer[2] que les acétals étaient doués d'un arome reconnaissable à des dilutions extrêmement grandes et que leur parfum allait en augmentant avec le poids moléculaire des alcools combinés. Ce sont les acétals des alcools supérieurs comme ceux qui se trouvent dans les vins qui sont les plus parfumés.

CONCLUSION

L'aldéhyde s'acétalise donc au moins en partie dans les vins et les eaux-de-vie, et les acétals qui en résultent contribuent à la formation du bouquet.

1. Les dosages d'aldéhyde acétique dans les eaux de vie ont été faits par la méthode Barbet, à l'hydroquinone, qui s'applique bien aux alcools de distillation.
2. TRILLAT et CAMBIER, *Bulletin de la Soc. Chim.*, 1894, p. 752 et 817.

b) *Acide acétique et éther acétique.*

Acétification de l'aldéhyde. — L'aldéhyde acétique en solution étendue s'acétifie lentement, sous l'influence de l'oxygène de l'air. Si la solution aqueuse d'aldéhyde renferme de l'alcool, il y a en outre éthérification, c'est-à-dire formation d'éther acétique.

L'acide et l'éther acétique ont été signalés comme existant dans les vins normaux; l'acide acétique libre représente, d'après quelques auteurs, le principal élément de l'acidité volatile des vins, qui varie de 1/4 au 1/20 de l'acidité totale; quant à l'éther acétique, on le trouve mélangé aux autres principes volatils du vin.

L'origine de l'aldéhyde acétique dans les vins sains a été généralement attribuée à des réactions secondaires s'exerçant entre les éléments du vin. Pasteur pense qu'une partie de cet acide acétique préexiste dans le moût. Quoi qu'il en soit, l'acétification de l'aldéhyde contribue à coup sûr à la formation de l'acide acétique dans le vin.

J'ai déjà publié ailleurs des essais qui font voir que l'acétification de l'aldéhyde est soumise à des influences : agitation, exposition, température, etc., semblables à celles de l'alcool; la présence d'un porteur d'oxygène la facilite particulièrement. Duchemin et Dourlon [1], à la suite de mes essais, ont étudié les causes qui provoquent l'acidification et par suite l'éthérification d'un alcool neutre : ils ont montré l'influence de la nature des parois sur la marche du phénomène.

Lorsqu'on opère en remplaçant l'alcool par le vin, le phénomène est encore plus accentué. C'est ce que prouvent les essais entrepris dans le but de démontrer : 1° que l'aldéhyde acétique dans le vin se transforme partiellement en acide, sous l'influence du temps et de l'oxygène; 2° que l'éthérification s'y produit à la longue.

Voici d'abord un tableau qui montre que lorsqu'un vin rouge est additionné d'aldéhyde acétique et exposé à l'air, son acidité augmente avec le temps par rapport au vin témoin.

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.; Bull. de l'Ass. des Chim. de Suc.*, 1906.

TABLEAU XIX

	ACIDITÉ VOLATILE Exprimée en milligr. d'acide acétique 1 000.			
	Au moment de l'expérience.	Après 5 jours.	Après 10 jours.	Après 15 jours.
I. Vin rouge témoin.........	95 mgr.	95 mgr.	102 mgr.	105 mgr.
Vin rouge 1/500 d'aldéhyde.	95 —	125 —	145 —	170 —
II. Vin rouge témoin..........	108 —	108 —	115 —	115 —
Vin rouge 1/2000 d'aldéhyde.	108 —	133 —	160 —	280 —
III. Alcool à 11°...............	5 —	7 —	10 —	10 —

On a constaté en même temps, par le dosage, une disparition correspondante de l'aldéhyde acétique dans les vins qui en avaient reçu.

c) *Ethérification.*

L'éthérification de l'alcool éthylique avec l'acide acétique a fait l'objet d'études qui me dispensent de m'étendre sur le phénomène. Mais il est intéressant de faire observer que non seulement le degré d'acidité totale du vin, mais aussi la présence de microorganismes favorisent l'éthérification. Cette influence est mise en évidence par des essais que j'ai faits directement sur l'alcool, pour mieux étudier le phénomène.

Une solution à 10 0/0 d'alcool a été additionnée d'acide acétique et partagée en deux parties; l'une d'elles a reçu 5 0/0 de levure (Levure Springer), soigneusement débarrassée de toute trace d'acidité fixe et volatile. Les deux liquides ont été agités pendant le même temps; après 12 et 48 heures d'attente, on a procédé au dosage des acides volatils.

TABLEAU XX

	Éther acétique formé exprimé en milligr. 0/0.		
	Au début de l'expérience.	Après agitation 10 minutes.	Après 48 heures.
Témoin sans levure...........	0	10	35
Essai avec levure.............	0	45	90

En même temps, on a constaté une diminution d'acidité libre plus considérable dans le liquide contenant la levure.

MM. Duchemin, Sauton et moi-même avons en outre reconnu l'influence éthérifiante de la levure dans un grand nombre de cas que nous publierons à part[1].

L'éthérification, d'ordre purement chimique, se superpose donc à celle produite par la levure.

Le phénomène explique bien pourquoi, dans le vieillissement, le minimum d'éther correspond au maximum d'aldéhyde, et *vice-versa*. Des résultats tout à fait analogues avaient été signalés par MM. Kayser et Demolon, dans d'autres conditions, en laissant en contact pendant plusieurs mois des moûts ensemencés de diverses levures.

CONCLUSION

L'aldéhyde acétique est donc capable de s'acétifier plus ou moins dans le vin rouge sous diverses influences et de contribuer ainsi à la formation des éthers du bouquet.

d) *Formation des dépôts, sous l'action des acétals.*

J'ai trouvé que les acétals exerçaient sur la matière colorante du vin rouge une action semblable à celle de l'aldéhyde acétique. Pour le prouver, j'ai répété les mêmes expériences que celle du tableau II (Voir la première partie de ce travail).

TABLEAU XXI

	DÉPOT après 24 h.	DÉPOT ap. 5 jours.	DÉPOT ap. 15 jours.	DÉPOT ap. 1 mois.
Vin rouge témoin....................	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.
— 1/500 acétal..............	Trouble.	Dépôt.		
— 1/1000 acétal.............	Clair.	Trouble.	Trouble.	Dépôt.
— aldéhyde, quantité correspondante à 1/1000 d'acétal.........	Clair.	Dépôt.		

L'acétal se comporte, vis-à-vis la matière colorante, de la même manière que l'aldéhyde, mais plus lentement. Le dépôt a le même aspect, la même coloration, les mêmes particularités.

1. TRILLAT ET SAUTON *Comptes rendus de l'Ac. des Sciences*, 1908. Voir aussi les observations de M. Mazé. *Ann. Inst. Past.* XVIII, 1904.

Enfin, les acétals des alcools supérieurs (alcools propylique, butylique, amylique) et les acétals à résidus aldéhydiques différents se comportent de même. L'aldéhyde libre peut donc disparaître sous forme d'acétal : la formation des dépôts n'en est pas arrêtée.

La combinaison des acétals avec les matières fixes du vin rouge ressort encore des expériences suivantes, qui montrent que l'extrait additionné d'acétal augmente légèrement de poids.

On a réparti 800 c. c. de vin rouge stérilisé dans 8 récipients plats tarés. 4 d'entre eux servaient de témoins; les 4 autres ont reçu chacun 1 c. c. d'acétal éthylique. Après un contact de 5 jours, on a évaporé le liquide dans le vide jusqu'à poids constant. Pour faire les pesées, on s'est entouré de grandes précautions pour éviter les erreurs dues à l'hygroscopicité de l'extrait sec.

TABLEAU XXII

	POIDS DES EXTRAITS TÉMOINS (calculé pour 1 litre.)	POIDS DES EXTRAITS DE VIN additionnés d'acétal.
I	26,156	26,487
II	26,180	26,498
III	26,148	26,505
IV	26,155	26,480

Cette augmentation de poids de l'extrait est donc très nette, comme pour le cas de l'aldéhyde ; l'acétal, produit volatil, s'est décomposé et s'est fixé à la matière colorante du vin. Ce résultat démontre que, dans un vin vieux, l'alcool en s'aldéhydifiant contribue indirectement à une très faible augmentation du poids de l'extrait sec.

CONCLUSION

L'acétal éthylique formé au cours du vieillissement est susceptible de provoquer la précipitation de la matière colorante du vin rouge, de la même façon que l'aldéhyde libre.

II. JAUNISSEMENT.

Au fur et à mesure que les dépôts se forment au cours du vieillissement du vin, on observe un changement de teinte : la couleur s'atténue, passe au rouge pelure d'oignon, et parfois au jaune orange. Le jaunissement des vins avait déjà été observé dès la plus haute antiquité, puisque Gallien et Oribase [1] en font mention. Ces changements de teinte, qui varient selon l'origine du vin, ont été étudiés et décrits par Pasteur qui en a reproduit quelques spécimens dans son ouvrage sur les maladies du vin et qui a démontré expérimentalement l'action accélératrice de la lumière sur le changement de teinte.

Or, ces changements de couleur ont lieu quand on ajoute de l'aldéhyde acétique à un vin rouge : le changement devient visible surtout à partir du moment où le dépôt est abondant; la teinte varie avec la nature du vin comme c'est le cas pour les vins vieillis naturellement et d'origines différentes. La vérification de ces résultats est facile.

La couleur des vins étant une résultante de matières colorantes de basicités différentes, analogues à certaines couleurs dérivées du triphénylméthane, comme l'avait prévu et démontré M. Armand Gautier, la précipitation de certaines d'entre elles (les moins solubles, probablement les plus rouges) doit évidemment amener un changement de teinte; voilà déjà une première explication.

Quelques auteurs ont attribué le jaunissement du vin à une caramélisation du sucre : or dans toute caramélisation de sucre il y a formation abondante de produits aldéhydiques; d'où précipitation de matière colorante.

Le phénomène rentre dès lors dans le cas étudié plus haut.

Le jaunissement se produirait aussi à la suite de la maladie de la casse [2].

Pour mieux faire saisir l'analogie qui existe entre les colo-

1. Oribase, traduction de Darembert, MDCCCLI, Imprimerie nationale, t. Ier, page 349.

2. On sait, d'après les travaux de Laborde, que le *Botrytis cinerea* serait une source abondante de diastase oxydante susceptible de produire la casse et le jaunissement. Je me propose d'étudier, dans un travail à part, si ces phénomènes sont accompagnés d'une production d'aldéhyde. Le fait que le *Botrytis cinerea* agit sur les solutions de quelques matières colorantes rouges végétales exemples d'alcool, comme l'a fait observer M. Martinand, ne suffit pas pour conclure *a priori* à l'absence d'aldéhyde : celle-ci peut prendre naissance dans une foule de circonstances.

rations que prennent les vins vieux naturels et les vins artificiellement aldéhydifiés, j'ai représenté dans la planche X le changement de teinte survenu dans ces derniers, c'est-à-dire dans des vins rouges additionnés d'aldéhyde.

La figure 1 représente un vin rouge témoin.

La figure 2 est le même vin aldéhydifié au 1/3000 après 2 semaines de contact.

La figure 3 représente le même vin après filtration.

Les figures 4 et 5 correspondent, d'après Pasteur, à un vin vieilli artificiellement à l'air et à son témoin. On remarquera la différence de teinte obtenue par la simple clarification du vin aldéhydifié. Ce fait confirme l'opinion émise plus haut sur le virage de la coloration : virage qui serait provoqué par la séparation des parties les plus rouges.

CONCLUSION

Dans un vin rouge, l'addition, ou ce qui revient au même, la formation d'aldéhyde acétique en quantité suffisante pour précipiter partiellement la matière colorante de ce vin, provoque en même temps le jaunissement du liquide clair.

III. AMERTUME.

Les recherches bibliographiques que j'ai faites sur l'amertume du vin, m'ont démontré que les anciens avaient déjà observé ce phénomène qu'ils avaient soin de ne pas confondre avec l'âpreté du vin. Pline l'ancien (Liv. XIV, *Insignia culturæ vinearum*), cite des vins ayant une tendance à l'amertume ; Théophraste (*De Causis*, liv. VI, chap. X), et Gallien en font aussi mention. La disparition même de l'amertume dans certaines circonstances leur était connue.

Plus récemment le goût amer qui caractérise certains vins rouges a été considéré comme une conséquence de la maladie microbienne dite de l'*amertume*, très connue dans les crus de Bourgogne. Cette amertume qui accompagne la maladie a été attribuée à plusieurs causes : sécrétion microbienne, altération de la matière colorante, etc.

Après Pasteur, plusieurs savants se sont occupés de l'amertume bactérienne. Duclaux a étudié les acides produits au cours de la maladie; Bordas, Joulin et Raczkowski ont pu isoler un ferment reproduisant l'amertume; Mazé et Pacottet ont mis en

évidence que le ferment de l'amer se comportait exactement en milieux sucrés comme un ferment mannitique et que dans les vins amers il se trouvait toujours un mélange d'espèces microbiennes diverses. Enfin Laborde[1] a émis l'opinion que l'amertume comme les autres altérations connues sous le nom de fermentation mannitique, pousse, tourne, etc., serait le fait d'un organisme unique dont les propriétés physiologiques se modifieraient sous l'influence des conditions d'un milieu aussi complexe et variable que le vin.

Pasteur et M. Vergnette-Lamotte[2] distinguaient deux sortes d'amertume du vin : la première, celle qui les atteint dans les premières années; la deuxième se produit dans les vins très vieux ; elle est connue sous le nom de *goût de vieux*. Au début de la maladie, le vin commence par présenter une odeur particulière, son goût est fade et doucereux; cette première manifestation est désignée sous le nom de *doucine*. A ce moment la saveur amère n'est pas encore très prononcée.

Mais, à côté de cette amertume très spéciale accompagnée du filament, on rencontre aussi des vins atteints d'autres maladies et possédant un goût amer. Bien plus, des vins sains, indemnes de tout germe, présentent parfois un goût bien caractéristique d'amertume, comme Pasteur l'a observé[3].

Le vin mis en vidange prend souvent, par le seul fait de l'action de l'air, une amertume prononcée sans que le vin présente la moindre trace de développement cryptogamique. Cette amertume offre ceci de particulier qu'elle disparaît si on supprime la vidange et si on conserve le vin en bouteille pleine pendant quelques semaines.

« J'ai vérifié maintes fois, dit Pasteur, que l'effet d'amertume était dû uniquement à une action chimique. »

Il ajoute que cette observation étendue au cas de l'amertume proprement dite, a fait croire que l'amertume était le résultat d'une décomposition de la matière colorante.

Il y a donc amertume et amertume et on peut distinguer pour le vin, comme c'est le cas pour le lait que M. Sauton et moi venons d'étudier[4], *plusieurs sortes d'amertumes* auxquelles on

1. *C. R. de l'Ac. des Sciences*, 1898. Nouvelles expériences sur les maladies du vin (Rapport).
2. *Etude sur le Vin* (Pasteur), page 66.
3. *Etude sur le Vin* (Pasteur), page 78.
4. *Annales de l'Inst. Pasteur*, avril 1908.

peut attribuer des causes très différentes. Aussi les observations qui suivent ne visent-elles pas spécialement l'amertume classique du vin, accompagnée de filaments : elles concernent aussi les cas de production d'amertume d'ordre purement chimique ainsi que le goût de *faux vieux* auquel Pasteur et Vergnette-Lamotte faisaient allusion. C'est, en effet, dans ces derniers cas, qui sont très fréquents, quand on y prête attention, que l'action de l'aldéhyde acétique semble être le plus manifeste.

L'hypothèse du rôle joué par l'aldéhyde acétique intervenant dans l'apparition des diverses sortes d'amertumes se pose tout naturellement à l'esprit quand on connaît, comme je vais l'exposer, les propriétés que possède ce corps de se polymériser ou de se résinifier dans des conditions particulières, en donnant naissance à des substances extrêmement amères. Ces explications complètent celles que je n'ai pu donner qu'imparfaitement dans une note présentée à l'Académie des Sciences.

Observations sur la formation et les propriétés de la résine d'aldéhyde.

Résinification de l'aldéhyde. — On sait, d'après les travaux de Ciamiccian, de Liebig, de Puchot[1], que ces résines aldédiques prennent naissance par l'action des alcalis sur les aldéhydes de la série grasse. Ainsi, quand on abandonne une solution d'aldéhyde acétique au 1/000, légèrement alcalinisée par la soude, la potasse, la chaux, ou de préférence l'ammoniaque, on la voit jaunir lentement : il se produit un trouble et finalement un dépôt. En même temps, le liquide prend une amertume intense qui s'atténue avec le temps et finit par disparaître.

Une semblable résinification n'a pas lieu seulement en milieu alcalin : elle peut se produire aussi, mais avec moins de facilité en solution acide, l'acidité étant même de beaucoup supérieure à celle des vins normaux.

La présence de l'ammoniaque *favorise* cette résinification : ainsi une solution alcoolique à 10° aldéhydifiée à 5 0/0, additionnée de 1/100 d'ammoniaque et acidifiée à 10 0/0 par l'acide acétique donne, après quelques jours de contact, par évaporation lente au bain-marie, un résidu jaunâtre, très amer.

1. *Annales de Phys. et Ch.*, 1886.

L'influence d'un sel ammoniacal pour la résinification de l'aldéhyde en milieu acide est manifeste.

De même, le liquide provenant d'un vin rouge, privé de sa matière colorante et additionné de 1/1000 d'aldéhydate d'ammoniaque, quantité insuffisante pour neutraliser l'acidité, donne aussi par évaporation un extrait amer, comparativement à l'extrait témoin.

Ces exemples montrent que la présence d'un sel d'ammoniaque en solution fortement acide retient en quelque sorte l'aldéhyde acétique qui finit par se résinifier.

La résinification de l'aldéhyde acétique se produit encore dans un grand nombre de cas : ainsi je l'ai observée dans les expériences d'aldéhydification de l'alcool sous l'influence des levures; une solution étendue d'aldéhyde se décompose par addition de substances albuminoïdes. Les solutions aqueuses d'aldéhyde jaunissent et deviennent amères quand elles sont en contact avec des fragments de muqueuse. Il est même fréquent que des solutions pures d'aldéhyde se polymérisent dans des flacons au laboratoire, sous l'influence de la lumière et de la nature des flacons. Le mécanisme de cette transformation de l'aldéhyde acétique est difficile à expliquer dans l'état actuel de la science.

Retenons donc, de l'ensemble de ces observations et expériences, que l'aldéhyde acétique peut se résinifier dans un grand nombre de circonstances et même, quoique plus lent, en milieu acide.

Propriétés. — La résine d'aldéhyde acétique fraîchement préparée est soluble dans l'eau alcalinisée, partiellement soluble dans l'eau acidulée ou alcoolisée, soluble dans l'alcool concentré. Les solutions sont colorées en jaune, elles possèdent une telle amertume que celle-ci est reconnaissable à une dilution de 1/50000. On se rend compte ainsi comment la formation de quelques décigrammes de cette substance suffiraient à communiquer au vin une amertume prononcée.

La solution aqueuse ne donne rien avec l'alun de fer, le cyanure de potassium et la solution de gélatine acidifiée. La substance n'appartient donc pas à la famille des tannins. La solution alcoolique se trouble par l'addition d'eau, elle s'éclaircit

par l'ébullition avec la lessive de soude; elle donne les indices suivants (pour 1 gramme de substance).

Indice d'acide .... 0 gr. 014 en KOH
Indice d'éther .... 0 gr. 0168 —

Essayée par la réaction de M. Halphen (dissolution dans un mélange d'acide acétique et phénique, et action des vapeurs de brome), on obtient une coloration vert intense.

Enfin la résine fraîche est entraînable par la vapeur d'eau : observation qui sera utilisée comme on le verra plus loin.

La résinification a lieu avec absorption d'oxygène; les solutions finissent par se troubler, former un dépôt dénué de toute amertume. L'analyse élémentaire de deux résines longtemps exposées à l'air m'a donné les résultats suivants :

	CARBONE	HYDROGÈNE	OXYGÈNE
I	73,92	8,11	17,97
II	74,06	8,13	17,81

Rôle probable de l'aldéhyde dans les diverses amertumes du vin.

Le mode de formation de ces résines, leurs propriétés physiques et chimiques, notamment celle d'être partiellement entraînables par la distillation et de s'oxyder en perdant leur amertume, vont me servir à établir le rôle probable de l'aldéhyde acétique dans les phénomènes de production des diverses amertumes du vin.

Le tableau suivant indique tout d'abord que des vins atteints de l'amertume peuvent contenir, au cours de la maladie, des doses notables d'aldéhyde.

TABLEAU XXIII

ORIGINE DES VINS	ALDÉHYDES en milligr. par litre.	ORIGINE DES VINS	ALDÉHYDES en milligr. par litre.
Bourgogne 1898	90	Bordeaux	70
— 1899	105	—	110
— 1900	68	Savoie 1901 (très amer).	150

J'ai pu y déceler, d'autre part, l'ammoniaque, confirmant ainsi l'observation de MM. Bordas, Joulin et Raczkowski [1], qui ont démontré que le filament de l'amertume fabriquait de petites quantités d'ammoniaque.

Remarquons que Maumené avait déja fait observer depuis longtemps que le vin riche en substance azotée, susceptible par conséquent de produire de l'ammoniaque, prenait plus facilement le goût amer.

La présence de l'aldéhyde et de l'ammoniaque dans les vins malades n'implique pas forcément comme conséquence la ormation d'amertume : il faudra, comme je vais l'expliquer, que d'autres circonstances interviennent.

La connaissance des propriétés des résines aldéhydiques cadre bien avec les observations faites par Pasteur au cours de ses études sur l'amertume. Il fit remarquer que les articles dont se composaient les filaments présentaient des nodosités analogues à des incrustations, solubles dans l'alcool, avec coloration jaune; que les vins prenaient une teinte pelure d'oignon en jaunissant de plus en plus; qu'il se formait des dépôts flottants, enfin que l'amertume pouvait disparaître sous l'influence du temps.

Ce sont bien là les caractères généraux que présentent les vins rouges additionnés d'aldéhyde. Les nodosités peuvent être expliquées par la précipitation qui a lieu sur les filaments. Relativement à la disparition de l'amertume, j'ai fait remarquer plus haut que sous l'influence du temps les résines aldéhydiques perdaient peu à peu leur amertume.

MM. Mazé et Pacottet, Babo et Nessler [2] ont recommandé, comme préservatif de l'amertume, l'aération mitigée du vin. M. Chuart [3] a émis l'opinion contraire. Connaissant les propriétés des résines d'aldéhyde, ces traitements ne sont pas contradictoires, selon qu'on envisage le début ou la fin de la maladie, le ferment ou la résine, c'est-à-dire le préservatif ou le remède.

Objection. — Les doses d'aldéhyde qui ont été trouvées dans les vins atteints de la maladie de l'amertume ne sont pas

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.* p. 1050 et 1443.
2. *Revue de viticulture*, 1904.
3. SEMICHON, *Maladie des vins*, 1905, p. 376.

plus considérables que celles que l'on peut rencontrer dans d'autres vins malades, ou dans des vins vieux. On peut dès lors se demander pourquoi ceux-ci ne présentent pas toujours un goût amer, et pourquoi l'addition d'aldéhyde et d'ammoniaque à un vin rouge ne reproduit pas toujours à coup sûr l'amertume.

Je répondrai à cette objection en faisant observer que l'aldéhyde a plusieurs destinations dans le vin : elle peut s'acidifier (tableau XIX), s'éthérifier (tableau XX), s'acétaliser, (tableau XVII et XVIII), se combiner avec la matière colorante (tableau XXII) ; l'ordre et l'importance de ces réactions sont variables, selon un grand nombre de circonstances, (tableau VIII)[1] comme c'est le cas, par exemple, pour la précipitation de la matière colorante du vin et dont les conditions sont si variables avec la composition du vin. La résinification de l'aldéhyde exige l'intervention de l'oxygène et peut-être celle d'un agent d'oxydation. C'est un phénomène complexe. Il y a donc dans le vin une composition optima qui peut favoriser la résinification.

C'est ce que prouve l'expérience. L'addition d'aldéhyde et d'ammoniaque au vin rouge dans une proportion de 1/3000 à 1/10000 ne provoque pas à coup sûr l'amertume intense que l'on observe dans les vins malades. Ainsi j'ai noté seulement deux cas, sur environ une vingtaine d'essais, où une amertume intense s'était très nettement produite après 3 semaines d'attente, alors que les témoins placés dans les mêmes conditions n'en présentaient pas trace. Quant aux autres vins d'essai, ils avaient manifestement acquis ce goût de faux vieux signalé par Vergnette-Lamotte et Pasteur, et possédant cet arrière-goût amer qui constitue l'amertume que prennent les vins rouges en l'absence de maladies microbiennes.

Mes appréciations personnelles ont été confirmées par celles de dégustateurs professionnels, qui ont déclaré comme étant amers des vins rouges additionnés d'aldéhyde à des doses variant de 1/5000 à 1/50000.

***

Les deux observations suivantes viennent encore à l'appui de l'hypothèse d'une résinification aldéhydique.

1. Pasteur, *Etude sur le vin*, 1886.

La première concerne le caractère volatif de l'amertume. J'ai indiqué plus haut que la résine d'aldéhyde était partiellement entraînable par la distillation quand elle n'était pas complètement oxydée. Me basant sur cette propriété j'ai pu retirer, par distillation à la vapeur, d'un vin de Bordeaux authentiquement amer, un liquide légèrement coloré en jaune et qui, par évaporation lente, a donné environ 5 centigrammes d'un résidu jaune amer, présentant les caractères de solubilité de la résine d'aldéhyde.

La deuxième observation s'appuie sur une remarque de Pasteur, qui a indiqué que la teinte des vins amers saturés par l'eau de chaux, jaunissait par rapport aux témoins non malades. On obtient les mêmes différences de teinte quand on neutralise en même temps qu'un témoin, l'acidité d'un vin rouge additionné d'aldéhydate d'ammoniaque.

En résumé, pour affirmer d'une façon définitive l'existence d'une résine aldéhydique dans le vin atteint de la maladie de l'amertume, il faudrait pouvoir en isoler une quantité assez considérable pour en permettre l'identification : identification difficile à établir quand on réfléchit à l'instabilité de sa composition. On se heurte malheureusement à la difficulté de se procurer des vins authentiquement malades, ou à la difficulté non moins grande de la réussite par voie d'ensemencement. Quant aux vins présentant une amertume ou le goût de faux-vieux en dehors de toute intervention microbienne, le rôle de l'aldéhyde me paraît être certain et les observations que j'ai rapportées en donnent une explication très acceptable.

J'ai exposé d'une part les faits qui militent en faveur de ma théorie; j'ai présenté, d'autre part, les objections qu'on peut lui opposer. De nouveaux travaux pourront l'infirmer ou la confirmer.

Jaunissement et amertume de l'alcool et des eaux-de-vie.

On rencontre parfois des eaux-de-vie possédant un goût d'amertume très prononcé. L'explication est facile à donner, j'ai montré que la partie amère du vin malade était parfois, selon l'âge de l'amertume, entraînable par la distillation. Une nouvelle distillation de ces eaux-de-vie ne fait qu'atténuer le goût d'amer; par évaporation lente du distillat, on retrouve un résidu jaune et amer. L'analyse d'une eau-de-vie amère m'a

donné 200 millig. d'aldéhyde par litre ; la présence de l'ammoniaque a été caractérisée par le réactif à l'iodure d'azote. Dans ce cas, l'amertume était bien due à de l'aldéhydate d'ammoniaque.

J'ai eu l'occasion d'étudier un exemple bien net d'alcool amer

Il s'agissait d'une fabrication dans laquelle cette amertume était reproduite journellement, au détriment de la qualité de l'alcool, qui passait décoloré à la rectification, jaunissait peu à peu, en prenant un goût extrêmement amer une fois exposé à l'air. Le phénomène diminuait, mais n'était pas arrêté par une nouvelle rectification. L'analyse de l'alcool fraîchement distillé démontrait la présence de l'aldéhyde et de l'ammoniaque.

L'enquête que j'ai faite sur la question a démontré que cet alcool provenait de la distillation de moûts ayant servi à la fabrication de levures par la méthode appelée « Procédé par aération ». On sait, comme cela a été démontré récemment, que l'alcool s'aldéhydifie plus rapidement au contact de la levure et de l'air. La formation de l'ammoniaque était due à une décomposition de la levure, au moment de la distillation.

L'amertume de l'alcool a pu être ultérieurement évitée par une distillation en millieu plus acide, afin d'empêcher l'entraînement de sels ammoniacaux qui provoquaient la résinification de l'aldéhyde acétique.

M. Egrot a également constaté ce phénomène qu'il a rattaché aux mêmes causes que moi. (Congrès de sucrerie et de distillerie, avril 1908).

On reproduit d'ailleurs, on peut dire à coup sûr, l'amertume d'une eau-de-vie ou de l'alcool par addition d'aldéhyde et d'ammoniaque. Ainsi de l'alcool à 60°, additionné de 200 milligrammes d'aldéhyde par litre et de 100 milligrammes d'ammoniaque, se colore en jaune et devient fortement amer. Comme dans le cas précédent, l'amertume passe dans l'alcool distillé.

Le rôle de l'aldéhyde dans la formation de l'amertume des alcools et eaux-de-vie ne fait donc aucun doute.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I. — L'aldéhyde acétique existe dans le vin et les eaux-de-vie à des doses variables, dépassant rarement 200 milligrammes

par litre. Sa présence résulte de l'oxydation de l'alcool sous l'influence de l'oxygène de l'air.

II. — L'aération du vin, l'agitation, la présence de micro-organismes, comme dans le cas de maladies, le vieillissement, sont des facteurs qui augmentent ses proportions.

III. — L'aldéhyde libre qui se forme dans le vin, quelle que soit son origine, disparaît peu à peu avec des destinations différentes :

a. Avec les matières colorantes du vin, elle donne des précipités plus au moins solubles, selon la nature du vin, sa composition et la température, contribuant ainsi à la formation des dépôts normaux au cours du vieillissement du vin et aux dépôts hâtifs dans les cas des maladies du vin d'origine microbienne ou diastasique. Son action peut donc s'ajouter dans les maladies de la casse, à celle des oxydases qui attaquent directement les matières colorantes et en provoquent la précipitation;

b. Avec les alcools du vin, elle donne des acétals simples ou dissymétriques qui, à la longue, précipitent lentement la matière colorante du vin;

c. Par une oxydation prolongée, elle se transforme partiellement en acide acétique qui s'éthérifie ensuite pour former au moins une portion de l'éther acétique que l'on rencontre dans tous les vins : acétals et éther acétique sont des composés qui contribuent à la composition du bouquet.

IV. — Enfin l'aldéhyde libre ou l'acétal peuvent se polymériser ou se résinifier en substances amères même en solutions acides, dans des circonstances bien définies pour l'eau-de-vie et l'alcool, mais moins définies pour les vins rouges.

V. — L'aldéhyde acétique et les acétals contribuent au jaunissement que l'on observe dans les vins vieux et les eaux-de-vie.

* * *

Sans vouloir lui attribuer un rôle prépondérant, on peut donc conclure que l'aldéhyde acétique participe donc plus ou moins aux principales modifications que subit le vin : c'est à ce titre que son rôle méritait d'être étudié et approfondi[1].

1. Je tiens à remercier ici M. Sauton pour sa collaboration au cours de ce travail.

Etudes sur l'ankylostomiase et le béribéri en Cochinchine.

Par F. NOC

Médecin-major de 2e classe des Troupes coloniales.

Le problème du béribéri est l'un des plus complexes et des plus confus de la pathologie exotique. Aussi les théories qu'on a émises sur son origine sont-elles nombreuses.

Il y a une vingtaine d'années, les médecins anglais et hollandais des Indes Orientales, notamment *Erni* [1] à Sumatra et *W. Kynsey* [2] à Ceylan voulurent, les premiers, faire jouer à l'Ankylostome duodénal et au Trichocéphale un rôle prépondérant dans la production du béribéri. Cette hypothèse souleva aussitôt de sérieuses objections : le Trichocéphale manquait chez un grand nombre de malades ; l'Ankylostome duodénal fut retrouvé chez un nombre considérable de sujets n'ayant pas le béribéri. Dans l'Inde, en particulier, *Dobson* [3] découvrit la présence de l'Ankylostome chez 75,57 0/0 des indigènes.

Les discussions [4] qui s'élevèrent à ce sujet montrèrent d'ailleurs que nombre de médecins confondaient à cette époque, sous le nom d'anémie, le *béribéri*, l'*ankylostomiase*, le *kala-azar* et la *malaria*. *Buddoch* et *Giles* [5] entre autres attribuaient à l'Ankylostome non seulement le béribéri de l'Assam, mais le kala-azar. Bien que la théorie helminthiasique du béribéri fût soutenue par d'autres observateurs, tels que *L. Braddon*, *F. Regnault*, *F. Thomas*, les contradictions et l'absence de preuves

1. Erni H., *Berlin. Klin. Wochenschr.* 1886, XXIII, 614.
2. W. Kinsey, *Report on Anœmia or Beriberi in Ceylan.*
3. E. Dobson, *Annual Sanit. Report for Assam for* 1892.
4. Baker, *Ind, Med. Gaz.*, déc. 1888. – Leslie, *On Beriberi*, *G. C. Press.* Simla, 1891. Peckelharing and Winkler, Walker, L. Braddon, etc. (Voir Davidson, *Diseases of warm climates.* 1893, P. Manson).
5. Giles, *Report of an investigation in to the causes of disease known in Assamas Kala-azar and Beriberi*, Shillong, 1880

Giles, *Report on Kala-azar and Beriberi*, Shillong, 1890. — *Report on Beriberi or Anœmia of Assam. Ind. Gaz. Med.* Jan. 1898.

suffisantes firent reculer le problème. Comment admettre, en effet, si le bériberi était l'ankylostomiase, qu'il fût si commun en Extrême-Orient et inconnu en Egypte et en Italie, où l'Ankylostome duodénal est si répandu? D'ailleurs, disait-on, le bériberi présente surtout les signes d'une polynévrite, tandis que c'est l'anémie qui domine dans l'ankylostomiase. Aussi la théorie helminthiasique fut-elle abandonnée.

De 1881 à nos jours, avec la diffusion croissante des théories microbiennes, on s'est efforcé de tous côtés de découvrir le microbe du bériberi, mais aucune des tentatives faites dans ce sens n'a reçu confirmation. Déjà, en 1893, *P. Manson* pouvait écrire : « On a beaucoup travaillé pour essayer d'établir l'origine microbienne du bériberi. Les résultats de ces efforts ont été cependant si contradictoires qu'il est impossible de dire en l'état actuel de la question ce qu'il faut accepter et ce qu'il faut rejeter[1]. » Et plus tard, en 1902 : « Nous sommes aussi ignorants sur le sujet que l'était *Bontius* quand il écrivait sur le bériberi, il y a plus de 250 ans. Les quelques progrès qu'on a faits récemment tendent plutôt à montrer ce que le bériberi n'est pas, qu'à dire ce qu'il est[2]. » Il ressort en effet des recherches d'observateurs minutieux, tels que *R. Koch*, *Simond*, etc., que les humeurs et les tissus dans le bériberi ne renferment aucun microbe spécifique.

On a tenté depuis quelques années de substituer à l'hypothèse purement infectieuse l'idée d'une maladie toxi-infectieuse ayant son point de départ dans le tube digestif. La notion d'intoxication cadre mieux que toute autre avec les faits cliniques : néanmoins, les microbes incriminés ne permettent d'expliquer ni l'origine, ni les symptômes spéciaux du bériberi, ni la propagation de la maladie. D'autre part, quelques expérimentateurs ont pu attribuer à leurs microbes des symptômes isolés, observés chez l'animal, comme les paralysies, et dont l'interprétation est difficile aux pays chauds, mais non la maladie classique, essentiellement polymorphe, qu'on observe chez les Asiatiques en Indo-Chine et chez les Européens au Brésil.

Au milieu de ces incertitudes, la théorie alimentaire a conservé quelques partisans, malgré les nombreuses contradictions

1. P. Manson (*In* Davidson, *Diseases of warm climates*).
2. P. Manson, *Brit. med. Journ.*, 1902, 2, 830.

qu'elle soulève. Il est en effet connu qu'*une nourriture monotone et pauvre en substances azotées*, comme le cas se présente chez les mangeurs de riz, *facilite l'éclosion du béribéri dans les milieux où il est endémique*. Mais il est impossible d'expliquer par l'hypothèse alimentaire les poussées saisonnières du béribéri, son allure parfois nettement contagieuse, sa présence chez des individus dont la nourriture est variée et qui ne mangent pas de riz, son absence chez un nombre considérable de mangeurs de riz.

I

ROLE ÉTIOLOGIQUE DE *Necator americanus* DANS LE BÉRIBÉRI

Lorsqu'on pénètre dans les hôpitaux d'indigènes en Cochinchine et dans plusieurs colonies de l'Extrême-Orient, on est frappé de voir un grand nombre de malades atteints d'affections disparates, de cause très mal définie, pour la plupart de longue durée et rebelles aux divers traitements : ce sont des porteurs d'ulcères atoniques aux membres inférieurs, qu'on désigne en Indo-Chine sous le nom d'*ulcères annamites*, des porteurs d'éruptions lichénoïdes et prurigineuses sur la partie inférieure du corps, confondues souvent avec la véritable gale, des malades atteints de faiblesse générale sans anémie appréciable, de douleurs dans les muscles, d'anémie non paludéenne, et enfin de *béribéri*. Aucun lien étiologique ne semble réunir tous ces symptômes variés ; mais en examinant les selles de chacun des malades, on y trouve, en nombre variable et avec plus ou moins de facilité, à côté des œufs de divers helminthes, les œufs de *Necator americanus*. L'administration de thymol à ces divers individus permet de retrouver le parasite adulte dans les matières fécales.

J'ai signalé en 1906 la fréquence remarquable de ce Nématode dans le tube digestif des sujets atteints de béribéri en Cochinchine[1]. Dans une première série d'examens, sur 77 individus atteints de béribéri, 74 furent reconnus porteurs d'*U. americana* (*N. americanus*) *Stiles*.

En poursuivant ces recherches sur une plus grande échelle, je suis arrivé à reconnaître que la théorie helminthiasique du

1. F. Noc, *C. R. Ac. des Sc.*, 28 mai 1906.

béribéri méritait un étude attentive, malgré les objections qui l'avaient fait écarter autrefois.

Du 1[er] janvier 1906 au 1[er] avril 1907, j'ai examiné 211 Chinois ou Annamites atteints des diverses manifestestations du béribéri : j'ai observé 197 fois les œufs de *N. americanus*, 4 fois seulement en concomitance avec ceux d'*U. duodenalis*. Chez 14 individus, l'examen des selles, bien que répété, est resté négatif[1].

J'ai pu contrôler ces diagnostics dans 84 cas par la recherche des vers dans les selles, après expulsion par le thymol; je les ai retrouvés d'autre part dans 19 autopsies de béribériques. J'ai ainsi examiné 2.326 Ankylostomes provenant de cette catégorie de malades : 8 fois seulement j'ai retrouvé *U. duodenalis*. La plupart des autres Ankylostomes présentaient les caractères de *N. americanus*.

Voici ces caractères différentiels qui concordent avec les caractères décrits par *Stiles*[2] ou par *von Linstow*[3] :

Corps cylindrique, un peu plus ténu en avant. Capsule buccale munie d'une paire ventrale de plaques ou lèvres semi-lunaires et d'une paire dorsale de lèvres semblables ; dent médiane dorsale en forme de pointe cônique saillante dans la cavité buccale (*type Monodontus*) *; une paire de lancettes dorsales effilées, souvent en forme de crochets et une paire ventrale de lames triangulaires, submédianes, situées au fond de la capsule buccale.* Quelques exemplaires présentent en outre, mais rarement, deux petites dents sur le bord libre de la paroi ventrale, en avant des lancettes ventrales.

Le mâle mesure 8 millimètres de long. La bourse caudale comprend un lobe dorso-médian court, qui semble souvent divisé en deux et des lobes latéraux saillants réunis par un lobe ventral indistinct. Les côtes dorsales et dorsolatérales ont une base très courte ; la côte dorsale est divisée à sa base en deux branches qui s'avancent en divergeant et dont l'extrémité est subdivisée en deux digitations.

On trouve des exemplaires mâles de 6 à 7 millimètres (semblable observation faite par *von Linstow*).

La femelle, longue de 11 à 12 millimètres, a la vulve située dans

1. Sur ces 211 malades, 27 seulement étaient porteurs des œufs du Trichocéphale et 61 de ceux de l'Ascaris lombricoïde.

2. Ch. W. Stiles, *Report upon the prevalence and geographic distribution of hookworm disease in the United States*. Washington, 1903.

3. Von Linstow, *Centralbl. f. Bakter. Parasit., Orig.*, XLIII Bd., Heft 1, p. 89.

la moitié antérieure du corps, mais au voisinage de l'équateur. L'extrémité postérieure effilée ne porte pas de mucron aigu.

J'ai trouvé, pour les dimensions des œufs ellipsoïdaux, de 68 à 76 μ de long sur 40 à 46 μ de large. *Stiles* donne, pour les exemplaires d'Amérique, de 64 à 76 de long sur 36 à 40 de large. *Von Linstow* a noté, chez les spécimens de chimpanzé, 65 μ sur 46 μ dans l'utérus.

Ces œufs ne contiennent jamais un embryon développé au moment de la ponte, mais le développement de l'œuf est très rapide et il est fréquent de voir des embryons libres quelques heures après l'émission des selles[1].

L'enkystement des larves se fait très rapidement sous le climat de Cochinchine. Au mois de mai, lorsque la température se maintient à 29-30° nuit et jour, on peut observer des larves immobiles, à cuticule très épaisse, le 4e jour après la mise en culture. La contamination peut donc être très rapide. J'ai retrouvé les mêmes larves enkystées dans la boue desséchée qui entoure les latrines des prisonniers à la prison de Giadinh où le béribéri est endémique.

Première objection a l'hypothèse ankylostomiasique. — *N. americanus* étant de beaucoup l'espèce la plus répandue parmi les helminthes et les Ankylostomes que l'on peut observer chez les béribériques en Cochinchine, on doit se demander s'il intervient, et dans quelle mesure, dans la genèse du béribéri.

La principale objection que l'on ait faite à l'hypothèse ankylostomiasique repose sur la fréquence des parasites intestinaux chez la plupart des individus sains ou malades aux pays chauds. Si l'on examine la population des districts où sévit le béribéri, dit *P. Manson*, on s'aperçoit bientôt que 50 0/0 des indigènes pris au hasard, et parfois même la population tout entière, hébergent des Filaires, des Ankylostomes, des Trichocéphales. On a beaucoup exagéré la portée de cette objection. Il est vrai que tous les porteurs d'Ankylostomes ne présentent pas des symptômes morbides; tous les ankylostomés d'Europe ne sont pas atteints d'anémie : on admet néanmoins que l'Ankylostome européen est la cause déterminante de l'anémie des mineurs,

1. *N. americanus* paraît être de beaucoup l'espèce la plus répandue sous les tropiques. Il est commun aux Philippines et constitue l'ancien Ankylostome duodénal du Brésil et de l'Amérique centrale.

tandis que la résistance individuelle et la ration alimentaire règlent l'intensité de cette anémie.

On ne saurait faire d'ailleurs de l'Ankylostome un vulgaire commensal de l'indigène, et si l'on veut se rendre compte des rapports qui existent entre le parasite et le béribéri, il importe de déterminer les conditions exactes dans lesquelles vivent les sujets : les uns habitent des locaux contaminés, les autres sont dans le voisinage du foyer infecté, d'autres sont disséminés aux environs, dans des familles indemnes, d'autres enfin ne se rattachent à aucun groupement où sévisse le béribéri.

En suivant cette méthode et en classant les individus suivant leur provenance, j'ai pu me rendre compte, par l'examen microscopique des selles de plus de 600 sujets chinois ou annamites et de 200 Européens indemnes de béribéri, que l'ankylostomiase est *inégalement* répartie en Cochinchine et que sa répartition est en correspondance avec celle du béribéri.

Les conclusions qui découlent de ces investigations sont les suivantes : 1° Présence presque constante de *N. americanus* chez 211 sujets atteints de béribéri en Cochinchine (93,36 p. 100);

2° Très grande fréquence de *N. a.* chez les individus (271 sujets examinés) vivant dans les agglomérations où sévit le béribéri (64,9 0/0). Il n'est d'ailleurs pas rare, dans ces milieux, de voir un individu considéré comme simple ankylostomé conduit à l'hôpital 24 heures après pour béribéri;

3° Fréquence moindre de *N. a.* dans les milieux (222 sujets examinés) où le béribéri ne sévit que sous forme de cas isolés (34, 5 0/0);

4° Diminution notable de *N. a.* dans les familles où le béribéri est plus rare ou chez les individus voyageurs (112 sujets examinés, 18,7 0/0);

5° Rareté ou absence de *N. a.* chez les Européens rarement touchés par le béribéri (200 sujets examinés, 1 cas d'ankylostomiase).

Deuxième objection a l'hypothèse ankylostomiasique. — « L'ankylostomiase, dit-on encore, si fréquente dans les milieux où sévit le béribéri, prépare le terrain à ce dernier en affaiblissant l'organisme. » Semblable objection suppose une différenciation facile entre les symptômes d'ankylostomiase et ceux de béribéri. Or

les premiers, surtout dans la race jaune, n'ont pas toujours été décrits avec précision : jusqu'à ces dernières années on différenciait mal l'anémie due à la malaria, au kala-azar ou à l'ankylostomiase; les caractères même de cette dernière subissent des variations suivant chaque latitude.

Les signes qui permettent de séparer les deux maladies, béribéri et ankylostomiase, sont en effet peu nombreux : ce sont d'une part l'anémie croissante, la géophagie et la perversion du goût, la diarrhée, la présence du sang dans les selles pour l'ankylostomiase, d'autre part la parésie et l'anesthésie, la fréquence de la mort subite pour le béribéri. Les autres signes, œdèmes, bouffissure de la face, douleur épigastrique, dyspnée, souffles cardiaques, fourmillements et même hydropisie ou anasarque sont fréquemment observés dans le béribéri et l'ankylostomiase [1]. Or, en cherchant les premiers de ces symptômes chez les ankylostomés d'Indo-Chine, j'ai dû constater qu'ils manquaient le plus souvent, pour faire place aux symptômes nerveux du béribéri. Voici les observations que j'ai faites sur chacun d'eux :

1° *Anémie*. — Chez les Chinois et les Annamites porteurs de *N. americanus*, on n'observe pas une véritable anémie : il y a généralement un léger degré d'hypochromie et d'hypoglobulie. Les cas d'anémie grave chez l'indigène relèvent presque toujours du paludisme. Il est par suite nécessaire, dans l'étude de l'anémie ankylostomiasique, de s'adresser à des agglomérations indemnes de paludisme, ou d'éliminer soigneusement, par la recherche des hématozoaires, les sujets infectés. C'est ainsi qu'à la prison de Giadinh, près de Saïgon, sur 87 prisonniers annamites, tous porteurs des œufs de *N. americanus* en grande quantité et indemnes de paludisme, je n'ai pas observé d'anémie notable. Sur 22 miliciens affectés au service de la même localité, je n'ai observé qu'un seul cas d'anémie avec œdèmes, encore le taux de l'hémoglobine atteignait-il 80 0/0.

Lorsque l'ankylostomiase s'aggrave, on observe rarement l'abaissement de l'hémoglobine à 45, 27, 17 0/0, que l'on rencontre habituellement dans l'ankylostomiase grave d'Europe. Voici les résultats que j'ai obtenus, en dosant le taux de l'hémo-

1. De nombreux cas de béribéri œdémateux seraient considérés comme cas d'ankylostomiase en Europe ou en Amérique.

globine par le procédé de Gowers-Sahli, chez 24 individus atteints de béribéri et, parallèlement, chez 21 malades atteints de diverses formes d'ankylostomiase :

Taux moyen de l'hémoglobine.

Dans le béribéri.		Dans l'ankylostomiase simple.	
79.85 0/0	B. œdémateux 76.80 0/0.	68.74 0/0	Anémie 73.3 0/0.
	B. paralytique 81.50 0/0.		Ulcères chroniques 74.58 0/0.
	B. mixte 81.25 0/0.		Anémie et complications 58.33 0/0.

Comme on le voit, les différences en hémoglobine qui séparent le béribéri de l'ankylostomiase proprement dite ne sont pas très accusées et il est difficile de trouver, dans le symptôme anémie, un critérium entre les deux affections. Il n'est pas rare d'ailleurs de rencontrer une anémie grave chez des sujets ayant eu des crises répétées de béribéri et de voir l'hémoglobine s'abaisser dans ces cas à 70 0/0 et au-dessous.

Ces observations ne sont pas spéciales à l'Indo-Chine. On avait déjà remarqué que, dans les races colorées, l'ankylostomiase ne détermine pas toujours de l'anémie. Aux Etats-Unis et à Porto-Rico, l'anémie ankylostomiasique frappe plus sévèrement les blancs que les noirs [1]. A Porto-Rico, une forme de la maladie, appelée « Hermosura », est caractérisée par de la fièvre, de l'anasarque sans anémie et est suivie d'une mort rapide [2]. Aux Philippines, l'ankylostomiase causée par *Necator americanus* est très répandue et ne détermine pas fréquemment de l'anémie [3].

2° *Géophagie.* — La géophagie paraît manquer chez les ankylostomés de Cochinchine. J'ai interrogé sur ce point un grand nombre d'indigènes de diverses régions sans obtenir de résultats positifs. Il est à noter toutefois que dans certains villages de la frontière siamoise (communication orale de mon camarade et ami le docteur N. Bernard), les indigènes mangent une sorte de terre friable et agréable au goût et que tous les Indo-Chinois, mâchant le bétel, avalent ainsi de petites quantités de chaux, mais ces habitudes, nullement en rapport avec

1. Ch. W. Stiles (*loc. citato*).
2. *Report on Anœmia in Porto-Rico*, Commission de l'anémie, 1906-1907
3. C. L. Cole, *Philipp. Journ. of Science*, Med. sc., vol. II, n° 4, 1907.

la présence des Ankylostomes, ne sont pas plus développées chez les malades que chez les individus résistants.

3° *Diarrhée*. La diarrhée est considérée comme un signe distinctif entre l'ankylostomiase et le béribéri. Or rien n'est plus variable que les troubles intestinaux chez les porteurs d'Ankylostomes. Ces sujets sont fréquemment infectés par d'autres parasites (Amibes, Lamblies, Ascarides, Trichocéphales, Douves), qui peuvent provoquer des troubles variés, notamment de la diarrhée, dont le point de départ n'a pas été élucidé jusqu'ici et qui a été mise au compte de l'Ankylostome.

Sur plus de 200 sujets, atteints de béribéri ou simples porteurs d'Ankylostomes, je n'ai pas noté de tendance plus grande à la diarrhée ou à la constipation. Le béribéri s'accompagne quelquefois de dysenterie amibienne, ou de diarrhée chronique, mais celle-ci n'est un signe particulier ni en faveur du béribéri ni en faveur de l'ankylostomiase.

4° *Mœlena*. — On considère comme un signe capital de l'ankylostomiase la présence d'une assez grande quantité de sang dans les selles, signe qui manquerait dans le béribéri. Or, chez les ankylostomiasiques de Cochinchine, la recherche du sang dans les selles par le procédé au buvard, de *Stiles*, donne des résultats négatifs. A l'autopsie des individus ayant succombé avec des Ankylostomes dans l'intestin, on trouve, dans le mucus intestinal et dans le chyme, de petites concrétions de matière noirâtre qui sont le résultat de la digestion du sang par les Ankylostomes, mais jamais en grande quantité. La Commission de l'anémie à Porto-Rico a fait des constatations analogues : il ne semble pas que l'anémie provoquée par *N. americanus* chez les blancs de Porto-Rico soit due à la perte de sang infligée par les vers, car on trouve rarement des globules rouges en quantité appréciable à l'examen des selles [1]. J'ai constaté d'ailleurs, sur de nombreux exemplaires de *N. americanus* recueillis vivants et observés *in vitro*, que ce ver absorbe les globules rouges. Ces derniers subissent dans la capsule buccale un rapide mouvement de flux et de reflux et. tandis qu'une partie pénètre dans l'œsophage, une autre est rejetée au dehors : dans le cas où l'helminthe est fixé à la muqueuse, la plaie résorbe donc un mélange de sang altéré et de sécrétion salivaire du

1. *Report on Anæmia in Porto Rico*, 1906-1907.

parasite. Ces conditions favorisent la pénétration d'une « hémotoxine » dans l'organisme et s'opposent à l'écoulement d'une grande quantité de sang dans l'intestin grêle. Il est à noter d'ailleurs que les Ankylostomes trouvés chez les Asiatiques sont en nombre peu élevé et dépassent rarement les chiffres de 200 et 350.

En résumé, on ne saurait caractériser l'ankylostomiase d'Indo-Chine par les signes habituellement décrits dans la même maladie chez l'Européen. En effet, lorsqu'on se trouve en présence d'œdèmes, d'hydropisie, de faiblesse générale chez les porteurs de *N. americanus*, on est obligé de constater que ces symptômes ne s'accompagnent pas de l'anémie, mais de troubles nerveux plus ou moins apparents qui sont ceux du béribéri.

5° *Symptômes nerveux*. — Les signes de début de l'ankylostomiase qu'on observe communément en Indo-Chine sont, en outre des œdèmes fugaces, l'anesthésie prétibiale, les douleurs dans les genoux, les fourmillements, la paresse des réflexes des membres inférieurs, la douleur au creux épigastrique, signes qui passent souvent inaperçus si l'on n'interroge pas soigneusement les malades. L'existence de ces signes montre que le béribéri n'éclate jamais brusquement, mais après une période prémonitoire qui est une période d'ankylostomiase proprement dite. En effet ces symptômes nerveux de « petit béribéri », comme on les appelle quelquefois, ne font pas défaut dans l'anémie des mineurs et dans l'ankylostomiase tropicale. *Riembault*[1] a signalé l'hyperesthésie et l'hypalgésie chez les ankylostomiasiques. *Boycott*[2] a observé en Angleterre l'anesthésie prétibiale; *Masius*[3], en Belgique, l'incoordination des mouvements volontaires. D'après *Sandwith*[4], le réflexe rotulien a été trouvé aboli, dans l'ankylostomiase d'Egypte, dans 48 0/0 des cas, augmenté dans 12 0/0, diminué dans 5 0/0. D'ailleurs, dans la plupart des cas, il n'a pas été fait de recherche systématique du côté du système nerveux.

L'absence d'anémie, en regard de ces troubles nerveux, donne à l'intoxication une allure spéciale et l'on voit apparaître rapidement les symptômes graves, dyspnée, impotence des

1. Riembault, cité in Calmette et Breton, *L'ankylostomiase*, Paris, 1905.
2. Boycott and Haldane, *Journ. of Hyg.*, 1903, p. 107.
3. Masius et Francotte, *Bull. ac. de Belgique*, 35, XIX, 1885.
4. Sandwith, Congrès méd. internat., Rome, 1894.

membres inférieurs, anasarque, mort subite qui caractérisent le béribéri aigu et ne se rencontrent que très tardivement dans l'anémie ankylostomiasique. Il y a là un passage fréquent des petits signes d'ankylostomiase à ceux du béribéri, qui semble indiquer chez les indigènes une diminution de leur résistance au poison des Ankylostomes.

En résumé, N. americanus est un parasite extrêmement répandu chez les Asiatiques en Cochinchine.

Sa fréquence est en rapport étroit avec la fréquence des éruptions cutanées, des plaies lentes à guérir, de la faiblesse générale, signes qui accompagnent habituellement l'ankylostomiase et surtout avec la fréquence des symptômes de beribéri.

L'étude comparée de l'ankylostomiase et du béribéri montre que le tableau clinique de la première varie suivant les pays et que pour l'Indo-Chine en particulier, les signes habituels de l'ankylostomiase cèdent la place aux signes du béribéri chez les porteurs d'Ankylostomes.

La fréquence avec laquelle apparaissent les paralysies et les anesthésies chez les indigènes permet de supposer une diminution de la résistance des Asiatiques vis-à-vis de l'intoxication par les Ankylostomes.

II

RÉSISTANCE DES INDIGÈNES DANS L'ANKYLOSTOMIASE ET LE BÉRIBÉRI

Étude de la formule leucocytaire.

La fréquence des troubles nerveux chez les Asiatiques infectés par *N. americanus* semble relever, chez ces malades, d'une diminution de la résistance vis-à-vis des sécrétions des Ankylostomes. Cette hypothèse trouve un appui dans le fait que la ration alimentaire des Annamites, et en particulier des prisonniers si souvent sujets au béribéri, est défectueuse et surtout pauvre en graisse et en matières azotées. La ration des prisons d'Indo-Chine comprend, d'une façon générale, 900 grammes de riz et 225 grammes de poisson salé. Si on la compare avec la ration d'entretien admise par les physiologistes, on a le tableau suivant :

Ration d'entretien pour 24 h.	
Principes minéraux	32 gr.
Subst. albuminoïdes	118 —
Graisses	56 —
Hydrocarbonés	500 —

Ration des prisons d'Indo-Chine[1].	
Principes minéraux	32,97
Subst. albuminoïdes	102,54
Graisses	20,47
Hydrocarbonés	689,04

Il y a donc dans le régime des prisonniers annamites un déficit en azotés et en graisse, un excès d'hydrocarbonés. Or, on a remarqué depuis longtemps que le béribéri frappe surtout les individus mal nourris et que ses symptômes s'atténuent lorsqu'on améliore le régime alimentaire ; on a vu de même que l'anémie ankylostomiasique frappe les populations pauvres et respecte les agglomérations où la nourriture est riche et variée. Ces constatations importantes m'ont conduit à rechercher si une alimentation presque exclusivement amylacée n'affaiblissait pas la résistance des cellules défensives de l'organisme et, en particulier, si la sensibilité des individus mal nourris au poison des Ankylostomes n'était pas en rapport avec une formule leucocytaire insuffisante.

J'ai eu l'occasion d'étudier la formule leucocytaire de nombreux prisonniers chez lesquels a éclaté en 1907, à Giadinh près de Saïgon, une épidémie de béribéri. L'agglomération indigène de la prison était ainsi constituée :

1° Cent prisonniers occupés aux travaux de routes et jardins, prenant leurs repas en commun et logés par groupes de 30 à 40 ;

2° Une vingtaine de miliciens mêlés aux travaux des prisonniers, allant comme eux pieds nus dans des conditions semblables de malpropreté, vivant en commun dans des cases ou paillottes.

La base de l'alimentation de ces deux groupes d'Annamites consistait en riz et poisson salé ; les miliciens avaient la faculté d'y ajouter des fruits, un peu de viande de porc ou de la volaille : ils variaient ainsi leur alimentation et l'enrichissaient en graisse et en aliments azotés.

Sur 100 prisonniers, 87 furent reconnus porteurs de *N. americanus*. Je n'ai constaté qu'une fois les œufs de *U. duodenalis*. Tous les miliciens furent trouvés également infectés par *N. americanus* (janvier 1907).

L'épidémie éclata le 15 février, trois ou quatre jours après une

1. Gayet, *Arch. de méd. navale*, t. XLII, p. 161.

pluie hâtive et inaccoutumée en cette saison. Les symptômes observés consistèrent surtout en fourmillements dans les membres inférieurs, œdème prétibial, paralysie avec anesthésie de tout le segment inférieur du corps, abolition des réflexes rotuliens, douleur épigastrique, sensation de froid autour des lèvres, morts soudaines, etc. Du 15 février au 30 mars, j'ai constaté à leur début 33 cas de béribéri chez les 87 prisonniers infectés. Chez les 13 prisonniers non infectés par *N. americanus* aucun cas de béribéri ne fut constaté. Enfin les miliciens échappèrent aussi au béribéri : j'ai relevé seulement chez eux quelques légers œdèmes n'ayant pas interrompu le travail.

Vingt prisonniers, parmi ceux qui contractèrent le béribéri, et 37 qui y échappèrent ont pu être examinés au point de vue de la formule leucocytaire avant et pendant l'épidémie comparativement avec 22 miliciens restés indemnes. Le tableau suivant donne la formule leucocytaire moyenne de ces trois groupes d'individus avant et pendant l'épidémie du béribéri.

	Miliciens restés indemnes.		Prisonniers restés indemnes.		Prisonniers ayant pris le béribéri.	
	Avant l'épidémie	Pendant l'épidémie	Avant l'épidémie.	Pendant l'épidémie.	Avant l'épidémie.	Pendant l'épidémie
Poly. n.	45,7 %	46,8 %	50,35 %	50,12 %	50,375 %	50,55 %
Mono ...	4,2 —	4,0 —	4,6 —	5,24 —	4,3 —	5,45 —
Lympho.	32,3 —	32,3 —	32,2 —	31,29 —	33,3 —	35,4 —
Eosino ..	17,8 —	16,9 —	12,85 —	13,35 —	12,025 —	8,60 —

On voit par ce tableau que :

1° La formule leucocytaire générale des ankylostomés d'Indo-Chine ne diffère pas sensiblement de celle du béribéri ;

2° Il y a dans tous les cas une éosinophilie caractéristique ; mais, tandis que chez les miliciens, mieux nourris que les prisonniers, cette éosinophilie est égale à celle qu'on observe habituellement en Europe ou en Amérique dans l'ankylostomiase (environ 18 0/0), chez les prisonniers qui vivent de riz et de poisson salé, elle est beaucoup moins élevée. La différence qu'on observe ici entre les miliciens et les prisonniers ne relève

évidemment que de l'alimentation, toutes les autres conditions étant égales.

3° Les miliciens sont restés indemnes de béribéri et leur formule leucocytaire est restée la même avant et pendant l'épidémie; chez les prisonniers qui ont contracté le béribéri, le chiffre des éosinophiles s'est encore abaissé, alors qu'il se maintenait au même niveau chez ceux qui ont résisté.

On sait, depuis les recherches de *Boycott*[1], de *Liermberger*[2], de *Stiles*[3], de *Malvoz*[4], d'*Honoré*[5], de *Lambinet*[6], etc., que le taux des éosinophiles, chez les porteurs d'Ankylostomes de race blanche, s'exagère lorsque l'état des individus infectés s'améliore sensiblement et que ce chiffre élevé persiste parfois longtemps après la guérison. Au contraire, lorsque l'état du malade s'aggrave, le taux des éosinophiles s'abaisse notablement. Il y a donc ici encore identité de réaction entre le béribéri et l'ankylostomiase grave;

4° En aucun cas le nombre des polynucléaires neutrophiles ne s'est trouvé augmenté, ce qui fait supposer qu'il n'y eut pas intervention d'un agent de nature bactérienne;

5° Comme dans l'ankylostomiase grave, le taux des grands mononucléaires et celui des lymphocytes sont légèrement augmentés pendant la crise de béribéri.

En résumé il y a, chez les prisonniers soumis à un régime presque exclusivement amylacé, un affaiblissement de la résistance leucocytaire vis-à-vis des sécrétions des Ankylostomes; cette résistance est encore diminuée au moment de l'apparition du béribéri.

Ce dernier fait est rendu encore plus évident si l'on groupe les malades suivant la gravité de leurs cas. J'ai noté dans les tableaux suivants les faits particuliers qui compliquaient la maladie dans les 33 cas observés à Giadinh, la formule leucocytaire étant notée chez ces 33 malades au moment de l'apparition du béribéri.

1. Boycott A.-E. and Haldane J. S., *Journ. of Hyg.* Cambridge, III, 95-136, 1903.
2. Liermberger, *Berl. Klin. Woch.*, 1905, n° 14, p. 387.
3. Stiles Ch.-W., *Brooklyn M.-J.* 17, 1903.
4. Malvoz, *Scalpel*, Liége, 5 juillet 1903.
5. Honoré, *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1904, p. 383.
6. Lambinet et Goffin, *Bull r. de Belgique*, 30 avril 1904.

I. — CAS DE BÉRIBÉRI A FORME BÉNIGNE

SIGNES CLINIQUES	Nos de l'observation.	P. neutro 0/0.	Grands mono 0/0.	Lympho 0/0.	Eosinoph. 0/0.	FAITS particuliers.
Fourmillements, parésie......	7	50	6	33	11	Amibiase et diarrhée.
Béribéri œdémateux..........	21	67	4	20	9	
—	23	45	13	22.5	19.5	
B. paralytique	26	46.4	2	40	11.6	Lombricose.
Anesthésies, parésie..........	29	45	3	35	17	Trichocéphales.
Fourmillements, anesthésie....	30	47	4	39	10	
Béribéri œdémateux..........	31	54	3	30	13	Amibiase intestinale.
—	33	43	5	40	12	
—	35	49	11	32	8	
Anesthésie et œdème.........	37	51	3	34	12	
Moyenne..............	»	49.74	5.4	32.55	12.31	

II. — CAS DE BÉRIBÉRI A MARCHE CHRONIQUE

SIGNES CLINIQUES	Nos de l'observation.	P. neutro 0/0.	Grands mono 0/0.	Lympho 0/0.	Eosinoph. 0/0.	FAITS particuliers
B. paralytique	6	61.5	3	30	5.5	Trichocéphales, Distomes.
B. œdémateux	12	38	16	37	9	Anémie, hématies nucléées, lombricose.
B. paralytique	25	39.5	7.5	43	10	
—	28	62.5	6	27	4.5	
B. œdémateux	32	46	4	48	2	
B. paralytique	18	52	11.5	24	12.5	
Moyenne..............	»	49.92	8	34.83	7.25	

III. — CAS DE BÉRIBÉRI GRAVE, HOSPITALISÉS, NON MORTELS

SIGNES CLINIQUES	Nos de l'observation.	P. neutro. 0/0.	G. mono. 0/0.	Lympho. 0/0.	Eosinoph.	FAITS particuliers.
B. paralytique.	4	47.	7	40	6	
—	10	69.	2	24	5	
—	13	58.5	3	33.5	5	Hématies nucléées.
B. mixte......	16	44	4	40	21	
B. œdémateux.	20	56	4	35	5	
B. mixte......	22	33	6	48	31	
B. œdémateux.	24	45.5	2.5	40	12	
B. paralytique.	34	46	5.5	41.5	7	
B. mixte......	36	43.5	18.5	35.5	2.5	
B. paralytique.	38	44	2	50	4	Hématies nucléées.
Moyenne.....	»	48.65	5.45	38.75	7.15	

IV. — CAS DE BÉRIBÉRI TERMINÉS PAR LA MORT.

SIGNES CLINIQUES	No de l'observation.	P. neutro 0/0.	G. mono 0/0.	Lympho 0/0.	Eosinoph. 0/0.	FAITS particuliers.
B. œdémateux.	1	47	4	43	6	Mort 24 h. après l'examen.
B. paralytique.	2	66	3	29	2	Mort 25 j. après.
B. mixte.	3	56	4	34	6	Lombricose, mort 12 jours après.
B. paralytique.	8	51	4	41.5	3.5	Mort 31 j. après.
—	15	51	4	36	9	Mort 16 j. après.
—	17	56	3	33	8	Mort 22 j. après.
—	19	52.5	3	38.5	6	Amibiase, mort 20 jours après.
Moyenne......		54.21	3.57	36.43	5.69	

On voit ainsi que le taux des éosinophiles tend à se rapprocher de la normale, sans augmentation des polynucléaires neutrophiles, dans les cas d'ankylostomiase compliquée de béribéri mortel.

On obtient des résultats semblables en groupant les malades suivant qu'ils ont des symptômes localisés, ou généralisés : 16 cas de béribéri ayant présenté des signes localisés aux membres inférieurs ont comme formule leucocytaire moyenne

P.	M.	L.	E.
51 —	6,5 —	33,5 —	9 0/0

14 cas ayant présenté des signes généralisés aux membres supérieurs et inférieurs ont comme moyenne :

53 — 4 — 36 — 7 0/0

Dans la forme paralytique, qui est généralement plus grave et plus tenace que la forme œdémateuse, le taux des éosinophiles est également un peu plus abaissé.

Enfin trois de ces prisonniers atteints de béribéri ont pu être examinés après guérison spontanée, sans expulsion de leurs parasites. Sous l'influence du repos et d'une amélioration dans le régime, leur taux d'éosinophiles est revenu à la normale des simples porteurs d'Ankylostomes, quand le béribéri a rétrocédé :

	N° 684	N° 695
Avant la crise.....	57 — 3 — 27,5 — 12,5 0/0	37 — 16,5 — 23,5 — 23 0/0
Pendant la crise...	47 — 4 — 39 — 10 0/0	54 — 3 — 30 — 13 0/0
Après guérison....	45 — 3 — 35 — 18 0/0	35 — 7,5 — 40 — 17 0/0

	N° 3472
Avant la crise.......................	26 — 3 — 44 — 27 0/0
Pendant la crise......	33 — 6 — 48 — 13 0/0
Après guérison..............	50 — 2 — 30 — 18 0/0

Dans les cas d'origine récente la formule leucocytaire peut se modifier rapidement : le repos de quelques jours à l'hôpital, un changement de régime, une médication cholagogue font remonter, chez certains malades, le taux des éosinophiles en même temps que les symptômes s'atténuent. J'ai examiné le sang d'un grand nombre de sujets provenant des hôpitaux d'indigènes de Cholon, Choquan, et Phu. My. Tous présentaient un taux d'éosinophiles généralement supérieur à la normale, et s'éle-

vant d'autant plus que le malade était depuis longtemps hospitalisé, mieux nourri et que ses membres avaient repris davantage leur aptitude fonctionnelle.

Toutefois, ayant constaté au cours de plusieurs examens histologiques d'intestin que, malgré la présence des Ankylostomes, les éosinophiles faisaient défaut dans la paroi intestinale, j'ai pensé à rechercher si, dans les points particulièrement lésés par l'intoxication, au niveau des membres paralysés par exemple, le taux des éosinophiles n'était pas inférieur à celui du sang de la circulation générale.

Or, à l'examen de 44 cas de béribéri bien caractérisés, j'ai noté que, presque toujours, l'éosinophilie est moins marquée dans le sang des membres paralysés ou œdématiés que dans celui des membres valides. Pareille observation concerne le chiffre des mononucléaires. Dans quelques cas même, les éosinophiles disparaissent totalement de la circulation. *Takasu* [1], au Japon, en examinant le sang de nourrissons atteint de kakké, avait déjà noté un taux d'éosinophiles inférieur à la normale. Ce fait paradoxal semble être un indice de la gravité de l'intoxication par les Ankylostomes. La recherche des éosinophiles dans le béribéri paraît donc devoir servir au pronostic.

J'ai divisé ces 44 malades en 3 catégories :

1° Cas de béribéri légers ;

2° Cas de béribéri à marche chronique ;

3° Cas de béribéri paralytique aigu à forme grave.

La différence en éosinophiles pour chaque membre est surtout marquée dans cette dernière catégorie.

1. Takasu, cité in Jeanselme, *Le Béribéri*, monographie, Paris, 1906.

I. Cas de béribéri léger[1].

Noms.	Poly. n.	G. mono.	M. mono	Lymph.	Eos. bil.	Eos dril.	OBSERVATIONS
C......	32.22 30 50	7.75 0 »	3.45 4 »	32.22 43 »	24.46 20.50	 2 »	Fièvre et anémie, œdème des membres inférieurs.
Ch	35.50 44 50	7.5 5.5	» »	40 » 33 »	17 » 17 »	» »	Faiblesse générale, œdème des inférieurs.
H	42 » 34.5	5 » 5 »	» »	34 50 30 »	13.50 10.5	» »	Œdème de la face et des membres inférieurs.
Ng.....	56.85 66.82	1.05 3.18	3.15 1.36	35.80 24.10	3.15 3.18	» 1 36	B. paralytique.
Sà.....	37.6 32 »	1.2 1.2	1.6 3.6	4.6 51.6	13.6 11.6	» »	—
Su.....	65 » 69 »	4 » 3 »	» »	25 » 25 »	6 » 6 »	» »	B. léger (fourmillements, anesthésie).
Suu ...	43 » 44 »	5 » 9 »	» »	40 » 39 »	12 » 8 »	» »	—
V......	45 » 48 »	3 » 8 »	» »	34 » 27 »	18 » 17 »	» »	

L'examen des formules qui suivent montre que le taux des grands mononucléaires se maintient peu élevé dans les formes chroniques. Il y a souvent augmentation du chiffre des lymphocytes. Enfin lorsqu'une amélioration survient par le repos, la formule leucocytaire du membre malade tend à se rapprocher de celle du membre sain et le taux des éosinophiles remonte.

1. La première ligne horizontale indique la formule leucocytaire du sang prélevé au doigt, la deuxième celle du sang prélevé au gros orteil.

II. Cas de béribéri a marche chronique.

NOMS	Poly. n	G. Mono.	M. Mono.	Lympho.	Eos. bil.	Eos. tril.	OBSERVATIONS
B......	71 » 68 »	2 » 6 »	1 5 5 2	23.5 19.6	1.5 0 »	0.5 1.2	B. paralytique et paludisme.
Ch.....	50 » 29 »	4 » 4 »	» »	23 » 49 »	23 » 18 »	» »	B. paralytique (m. infér.).
Chi....	41 » 28 »	4 » 2 »	» »	41 » 61 »	14 » 9 »	» »	Main droite non paralysée; jambe gauche (paralysie et anesthésie).
Chu....	31.42 32.50	5.74 1.50	3.57 2 »	47.85 46 »	11.42 18 »	» »	En voie de guérison.
Chum..	44.65 35.72	3.25 4.30	4.65 1.42	35.35 45.72	12.10 11.42	» 1.42	Rechute. Amélioration.
C. T...	45 » 26.32	3 » 2.63	2.5 4.73	33.5 52.64	14 » 12.63	2 » 1.05	Amélioration des phénomènes parétiques.
D.	39 » 38 »	7 » 8 »	» »	43 » 46 »	11 » 8 »	» »	Anesthésie et œdèmes.
H.... .	40 » 28.75	1.25 6.25	3.12 2.50	31.88 43.75	23 75 15 »	» 3.75	B. paralytique.
I......	53.07 53.32	1.92 0.70	3.46 1.33	37.70 36.65	3.85 8 »	» »	Parésie des membres inférieurs et œdème épigastrique.
L......	52 » 42.85	2.86 2.15	2.58 1.42	27.42 37.15	13.72 16.43	1.42 0 »	En voie de guérison.
Lg.....	46 » 46 »	2 » 3.5	» »	47 » 49.5	5 » 1 »	» »	Œdème persistant (membres inférieurs).
Li.....	63 » 63 »	4 » 4 »	» »	23 » 22 »	10 » 11 »	» »	Fourmillements, anesthésie.
Lô.....	57.2 44 »	2.8 1.2	1.2 1.2	31.6 48.8	5.6 4.4	1.6 0.4	Paralysie ancienne des extenseurs.
Ly	54.8 47.7	7.2 2.3	3.6 3.85	23.6 32.3	7.2 7.7	3.6 6.15	Paralysie et œdème.
N. ...	53.52 56 »	1.18 6 »	2.94 3.5	31.76 22.5	9.42 12 »	1.18 »	Amélioration.
P	83.10 75.80	0.68 2.90	1.38 3.40	13.46 17.90	1.38 0 »	» »	B. paralytique grave. Impotence des membres inférieurs et supérieurs.
T. A...	40 » 38.20	5.38 5 45	3.48 1.80	48 84 53.20	2.30 1.35	» »	B. paralytique.
Th	64 » 66.70	0.70 1.32	3.32 1.32	22.66 22.66	8 » 8 »	1.32 0 »	B. paralytique.
Th	39.14 42.63	1 30 1.47	5.65 4.21	45.21 43.34	8.70 7.30	0 » 1.05	Œdème ayant succédé à la paralysie.
T. O...	55 » 56 »	3 » 5 »	» »	27 » 27 »	15 » 12 »	» »	Paralysie (membres inférieurs).
Tr.....	51 » 23 »	2 » 1.5	1.5 4 »	40 » 69 »	5.5 2.5	» »	Paralysie (membres inférieurs).
Tu	48 » 56.5	8 » 5.5	» »	32 » 26 »	12 » 12 »	» »	Paralysie (membres inférieurs).
V......	24.28 37.32	2.38 2 »	4.28 6 »	51.91 44 »	17.15 9 34	» 1 34	Amélioration.
V......	52 » 51.5	5 » 6 »	» »	24 » 21 »	19 » 21.5	» »	Paralysie des membres supérieurs et inférieurs.
Vi. ...	63.68 40.95	2.10 2.85	4.74 14.30	27.90 40.95	1.58 0.475	0 » 0.475	Œdèmes (granulations éosinoph. rares et clairsemées).
X......	47.82 45.17	1.73 2 06	7.82 4 89	30 90 42.04	10 43 4 89	1.30 0 41	B. paralytique depuis un mois.
X......	45.71 32 76	1.42 3.90	» »	33.57 48.90	19 30 14 44	» »	B. paralytique depuis un mois (amélioré).

III. Cas de béribéri aigu grave.

NOMS	P. n.	G.M.	M.M.	L.	E. b.	E. t.	OBSERVATIONS
B......	63.22 59 »	1.7 1.5	1.7 2 »	30.52 35 »	2.76 2.5	» »	Paralysie et anémie.
C......	48 » 37 »	6.5 4.5	» »	33.5 53 »	1.3 5.5	» »	Impotence des extrémités inférieures.
D.....	71.10 55 »	7.80 1.70	3.35 1.70	17.75 40.75	0 » 0.8[illegible]	0 0	Anasarque.
Dg....	43.5 42.5	2 » 1.25	5.5 5 »	39 » 40.625	10 » 10.625	0 0	B. paral. grave et anémie.
Dê....	44 » 32 »	3 » 6 »	» »	45 » 51.5	8 » 10.5	» »	Paralysie complète des membres inférieurs.
L.....	51.27 37.20	0 » 2.30	[illegible].78 3.94	36.30 51.31	1.60 3.28	6.0[illegible] 1.97	B. paralytique (membres inférieurs).
M.....	40 » 25 »	5 » 6.5	» »	53 » 68 »	2 » 0.5	» »	B. paralytique, hyperesthésie.
W....	69.52 61.36	1.90 3.18	» 5 »	23.34 25.46	3.34 4.10	1.90 0.90	Anasarque.
X.....	28.08 39.16	4.10 1.65	1.82 2.93	50 » 44.16	16 » 10.85	» 1.25	Impotence des membres supérieurs et inférieurs ....

Comme on le voit, lorsque tout l'organisme participe aux symptômes d'intoxication, il y a baisse générale des neutrophiles et des grands mononucléaires pour les membres supérieurs et inférieurs, les éosinophiles peuvent faire défaut dans la circulation et le taux des lymphocytes est alors augmenté.

Il paraît donc y avoir, dans certains cas de béribéri, une anaphylaxie complète vis-à-vis de l'intoxication ankylostomiasique et l'on est conduit à rechercher, dans l'organisme des individus gravement atteints, les preuves de l'accumulation ou du passage des sécrétions des ankylostomes.

(*A suivre.*)

A propos de la signification du Bacillus coli dans les eaux potables.

ÉTUDE DE CE BACILLE DANS LES EAUX DE TOULOUSE

PAR MM.

Dr GUIRAUD

PROFESSEUR D'HYGIÈNE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE TOULOUSE

ET Dr HENRI MAUDOUL

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Travail fait au laboratoire d'hygiène de la Faculté de médecine de Toulouse.

Les hygiénistes sont restés longtemps divisés sur la signification du *bacillus coli* dans les eaux potables. Après avoir bataillé une dizaine d'années, il ne semble pas que l'accord soit loin de se faire. La plupart, en effet, admettent aujourd'hui avec Freudenreich [1], Petruschy et H. Pusch [2], Kaiser [3], Hagemann [4], H. Vincent [5], etc., que le bacille d'Escherich, qu'héberge l'intestin de l'homme et des animaux, n'est pas un hôte banal de l'eau, mais que sa présence ne prend une valeur décisive que lorsqu'il y est constaté en quantité notable. Le facteur quantité représente donc un élément important dans l'appréciation des causes de contaminations. Les recherches [6] qui se poursuivent depuis plusieurs années au laboratoire d'hygiène de la Faculté de Médecine de Toulouse nous permettent d'apporter notre modeste contribution à cette question.

1. FREUDENREICH, Rech. du *B. coli* dans l'eau *Ann. de micrographie* 1896.
2. PETRUSCHKY et PUSCH, Bacterium coli als indicator für Fœkalverunreinigung von Wassern, *Zeitschr. f. Hyg.* t. XLIII, fasc. 2..
3. KAISER, Ueber die Bedeutung des Bacterium coli im Brumenwasser, *Archiv. f. Hyg.* LII. 1905.
4. HAGEMANN, Zur coli-Frase beider Bemtheilung der Wasserverunnreinigung (Viertelv, f gerichtl, *Wed. und affentl. Sanitatswesen*, XXIX, 1905).
5. H. VINCENT, Sur la signification du *Bacillus coli* dans les eaux potables, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1905.
6. GUIRAUD, Les eaux potables de la ville de Toulouse au point de vue bactériologique et sanitaire. *Revue d'hygiène*, t, XVI, n° 11, 1894.
H. MAUDOUL, Les eaux d'alimentation de la ville de Toulouse. Leur histoire, leur rôle au point de vue hygiénique, *Thèse Med.* Librairie polytechnique, Paris, 1898.
H. MAUDOUL, Sur la signification du *bacterium coli commune* dans les eaux potables. *C. R.* XXXVII. *Congrès. Soc. savantes*, Toulouse.
A. GAUTIÉ, Sur la détermination quantitative du coli babille dans les eaux d'alimentation. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX. 1903.

1° *Quelques considérations sur la filtration naturelle.*

La ville de Toulouse emploie pour son alimentation le système des *galeries dites filtrantes*, installées le long des berges perméables de la Garonne. Ces galeries, faites de briques tubulaires, reçoivent les produits d'infiltration qui s'effectuent à travers les matériaux perméables, graviers, sables, etc., des alluvions anciennement déposées par la rivière. En réalité, elles ne jouent aucun rôle dans la filtration ; elles se bornent à recueillir les eaux préalablement filtrées par le sol. Ce sont donc plutôt des *galeries captantes*.

Une première question se pose, importante pour l'hygiéniste : Quelle est l'origine des eaux qui alimentent ces galeries? Il semble qu'à Toulouse ce soit un mélange de la nappe phréatique et des infiltrations de la rivière. Le niveau statique de la nappe qui alimente les galeries ne s'éloigne jamais, en effet, des limites des niveaux du fleuve ; et, d'autre part, la comparaison des analyses minérales des eaux de la Garonne, de la nappe et des galeries montre que celle de ces dernières occupe une place intermédiaire. La rencontre des eaux d'origine fluviale avec la nappe phréatique, beaucoup plus minéralisée, détermine la formation d'une zone mixte décomposable en une série de tranches liquides, dont les extrêmes se rapprochent respectivement de la composition du fleuve et de la nappe, et dont les moyennes présentent des caractères intermédiaires. L'équilibre des deux nappes varie suivant les oscillations de leurs niveaux respectifs.

La double origine de l'eau qui alimente les galeries captantes de Toulouse montre tout de suite quelles causes de contamination peuvent provenir à la fois et de la nappe et de la Garonne. Il importe donc de dresser tout d'abord l'état des lieux occupés par les filtres.

Les galeries captantes de Toulouse sont installées sur la rive gauche de la Garonne. Elles sont au nombre de quatre.

La galerie Guibal, la plus ancienne, établie dans l'*enceinte même de la ville ;*

La galerie de Braqueville, qui a remplacé les anciens puits d'essai ;

Les deux galeries de Portet, dont la plus récente est la plus rapprochée du fleuve, en contre-bas de trois mètres avec la précédente.

Les galeries de Braqueville et de Portet sont *éloignées de la ville.*

Les filtres sont reliés à la canalisation et aux réservoirs par un long aqueduc en maçonnerie. Cet aqueduc recueille aussi les eaux de source de Clairfont, près Braqueville, captées il y a quelques années.

2° *Variations quantitatives du colibacille dans les filtres.*

On doit tout de suite mettre hors de cause les sources de Clairfont. Nous n'avons jamais pu y déceler le colibacille et, d'autre part, le chiffre des germes qu'elles renferment est peu élevé (50 par centimètre cube). Ces sources, malheureusement trop peu abondantes, sourdent de terrains sablonneux, et on sait que la filtration effectuée par des dépôts de cette nature est des plus satisfaisantes.

Par contre, dans la galerie Guibal, ce microbe pullule en abondance, puisqu'on peut l'isoler de quelques gouttes d'eau. Les causes de l'adultération de cette galerie ont une double origine : elles proviennent et du fleuve et de la nappe phréatique. Les rives de la Garonne sont en effet particulièrement sales en cet endroit. D'une façon périodique, cette portion du lit du fleuve est presque mise à sec. De ces bas-fonds sableux, où séjournent des animaux en putréfaction, se dégage une odeur nauséadonde. Quant à la nappe phréatique [1], elle lave, avant son arrivée à la galerie, le sous-sol d'un faubourg populeux, celui de Saint-Cyprien, où nombreuses sont les causes de contamination. La plupart des maisons de ce quartier ne possèdent que des fosses étanches. Ces dernières ne sont autre chose souvent que d'anciens puits abandonnés. On s'explique ainsi l'abondance du coli dans la galerie ainsi alimentée.

Il n'en est plus de même pour les galeries de Portet et de Braqueville. Le fleuve et la nappe phréatique qui les alimentent ne traversant aucun centre important de population, paraissent être, en temps ordinaire, à l'abri de toute contamination. Toutefois, comme le montrent les recherches effectuées par l'un de nous [2], pendant les années 1897-98, au laboratoire d'hygiène, ces

1. Dr F. Garrigou, *Études sur les filtres et sur l'eau des fontaines de Toulouse*, 1873.
2. Henri Maudoul, *loc. cit.*

filtres sont périodiquement visités par le colibacille. Les variations quantitatives de ce microbe dans les filtres paraissent être en rapport avec les divers niveaux de la rivière, c'est-à-dire en définitive avec la charge sur le radier des galeries. La charge est, en effet, loin d'être constante, par suite des grandes oscillations que subit le niveau du fleuve aux diverses saisons. A certains moments, pendant l'été, les eaux sont très basses ; le débit des galeries est alors très faible, insuffisant même pour alimenter la ville. Dans les périodes de crues, au contraire, les infiltrations deviennent si abondantes, qu'elles envahissent entièrement la galerie et en rendent l'accès impossible.

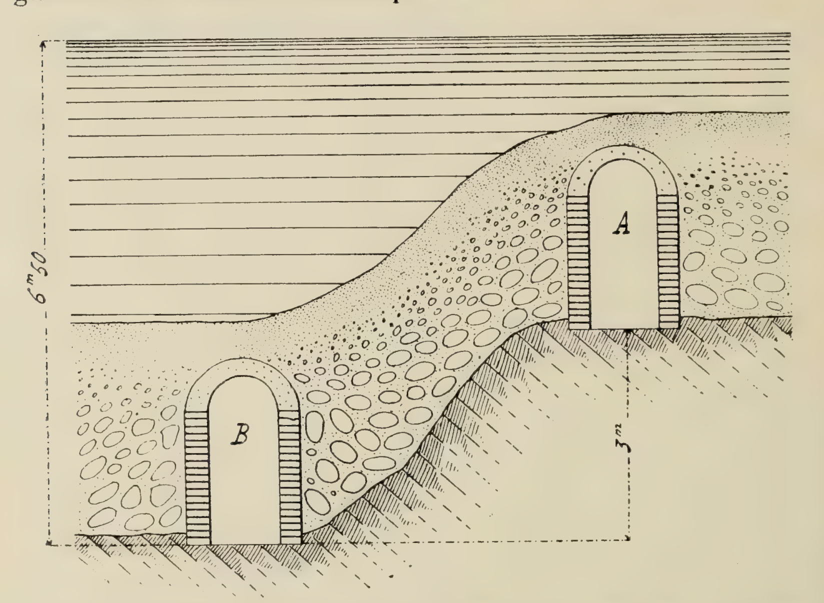


Figure 1. — Diagramme montrant les différences de charge dans les galeries A et B (galeries de Portet à Toulouse). Dans la galerie B où la charge est élevée, le colibacille existe en permanence. Dans la galerie A où la charge est moins grande, le colibacille, absent en période de basses eaux, pullule en période de hautes eaux quand la charge augmente.

Corrélativement à ces oscillations du fleuve, il se produit d'importantes modifications en quantité et en qualité dans la flore bactérienne des produits de filtration. En juillet 1897, par exemple, les eaux du fleuve étant dans leur état moyen (à la cote 139), le colibacille ne put être décelé dans 100 c. c. d'échantillons d'eau prélevée dans les galeries de Braqueville et la galerie ancienne de Portet. Au mois de mai de l'année suivante, les eaux

étant plus élevées (cote 140), le colibacille est décelé dans les échantillons d'eau de Portet, mais pas à Braqueville. Un mois plus tard, la crue ayant augmenté (cote 140,68), le colibacille est constaté dans les filtres de Braqueville. Il semble donc que la filtration se fasse d'une manière plus satisfaisante à Braqueville qu'à Portet ; les analyses quantitatives accusent d'ailleurs 120 à 200 colonies par centimètre cube dans les eaux de Braqueville et de 300 à 900 dans celles de Portet. Toutefois, le fonctionnement de ces filtres est insuffisant puisqu'ils sont incapables de retenir le coli hors des hautes eaux.

Depuis ces premières recherches, des modifications ont été apportées aux filtres, apportant une vérification de ces résultats. A côté de la galerie primitive de Portet, on en a établi une nouvelle plus rapprochée de la rivière et en contre-bas de trois mètres environ avec la première, toutes conditions qui ont eu pour effet d'augmenter la charge et par conséquent le débit. Au lieu de 4,000 m. c. à 5,000 m. c. comme la première, la nouvelle galerie peut donner 10,000 m. c. Mais quel a été le résultat au point de vue de l'épuration? Les analyses faites au laboratoire d'hygiène, en période des basses eaux, nous ont montré que le colibacille n'existait pas dans la galerie haute, mais qu'il avait pénétré dans la galerie basse.

Donc augmentation de la charge, passage du coli. En période des hautes eaux, le coli existe dans les deux galeries, en abondance même, car on peut l'isoler dans un centimètre cube d'eau. L'abondance du coli est en rapport avec l'intensité de l'infection. Ces observations acquièrent la valeur d'une véritable expérience. Grâce, en effet, à la disposition qu'affectent les deux galeries de Portet, il est possible d'isoler le facteur pression et d'apprécier son influence sur la teneur microbienne des produits de filtration.

Ceci permet d'expliquer les résultats inégaux obtenus avec les galeries captantes. Chaque fois que, dans notre ville, on a voulu augmenter le débit des galeries, la filtration est devenue insuffisante. C'est ce qui est arrivé à d'Aubuisson, le créateur de ces filtres, lorsqu'il voulut recueillir les eaux à l'aide de puits profonds et près de la rivière, à Guibal qui établit sa galerie à $1^{m},80$ en contre-bas de celles de d'Aubuisson. C'est encore ce qui se produisit lorsqu'on voulut prolonger la galerie Guibal : le niveau de

la nappe ainsi abaissé détermina un appel des eaux du sous-sol du faubourg et ce résultat fut déplorable.

Il se passe donc dans les filtres naturels ce que l'on a observé depuis dans les filtres artificiels, à savoir qu'à l'inverse du débit la quantité de microbes contenue dans les produits de filtration est, toutes choses égales d'ailleurs, fonction de la charge et qu'elle croît ou décroît dans le même sens que cette dernière. L'épuration des eaux ne s'effectue d'une manière satisfaisante dans les galeries de notre ville que lorsque les filtres fonctionnent à *basse pression*.

Remarquons que la charge ne peut être réglée dans les filtres naturels, qu'elle est entièrement livrée aux caprices des cours d'eau. Il existe donc une différence essentielle dans le mode de fonctionnement des galeries filtrantes et des filtres à sable artificiels, qui jouissent actuellement d'une faveur si méritée auprès des hygiénistes. Les premiers, en effet, marchent à *pression variable*, tandis que les seconds sont des appareils à *pression constante*. Or la constance de la charge est un facteur indispensable pour l'obtention d'une bonne filtration. Aussi ne faut-il pas s'étonner si, dans les filtres naturels, cette dernière est moins régulière et moins satisfaisante que dans les filtres artificiels.

3° *Variations quantitatives du colibacille dans la canalisation.*

Les variations quantitatives du colibacille dans la canalisation apparaissent encore là comme fonction de contamination. L'un de nous (Maudoul, *loc. cit.*), en pratiquant, d'une façon systématique, des analyses de l'eau de la canalisation en divers points, a déjà montré l'existence du coli (dans 100 c. c. d'eau) de l'aqueduc qui amène les eaux des filtres dans la ville. A l'époque où ont été faites ces analyses, le coli n'existait pas dans les filtres; il y avait donc des causes de contamination autres que celles provenant d'une mauvaise filtration ; l'enquête établit que cet aqueduc n'était pas étanche et qu'il présentait par endroits des fissures permettant le passage d'infiltrations superficielles. D'où la présence du coli. Or, cette conduite d'amenée traverse une région habitée et l'asile d'aliénés de Braqueville n'en est pas très éloigné. L'égout de l'asile[1] passe au-dessus de cette conduite et, jusque

1. Cet égout, d'après le Dr Dubuisson, directeur de l'asile, serait établi de telle manière qu'il ne pourrait s'y produire de fuites.

dans ces derniers temps même, un dépotoir écoulait ses eaux résiduelles à l'aide d'un aqueduc placé de la même manière. Nombreuses sont donc les causes d'infectiondecette conduite. « Dans ces conditions, il est aisé de concevoir qu'elles peuvent être les conséquences de cet état de choses Qu'une épidémie éclate, en effet, à Braqueville, et les germes seront charriés et répandus dans la ville. (Maudoul, *loc. cit.* p. 193).

Or, pendant l'été 1904, une épidémie de fièvre typhoïde éclata à Toulouse, avec des caractères particuliers, affectant une répartition singulièrement suggestive. Elle se manifesta simultanément dans l'asile d'aliénés de Braqueville et dans

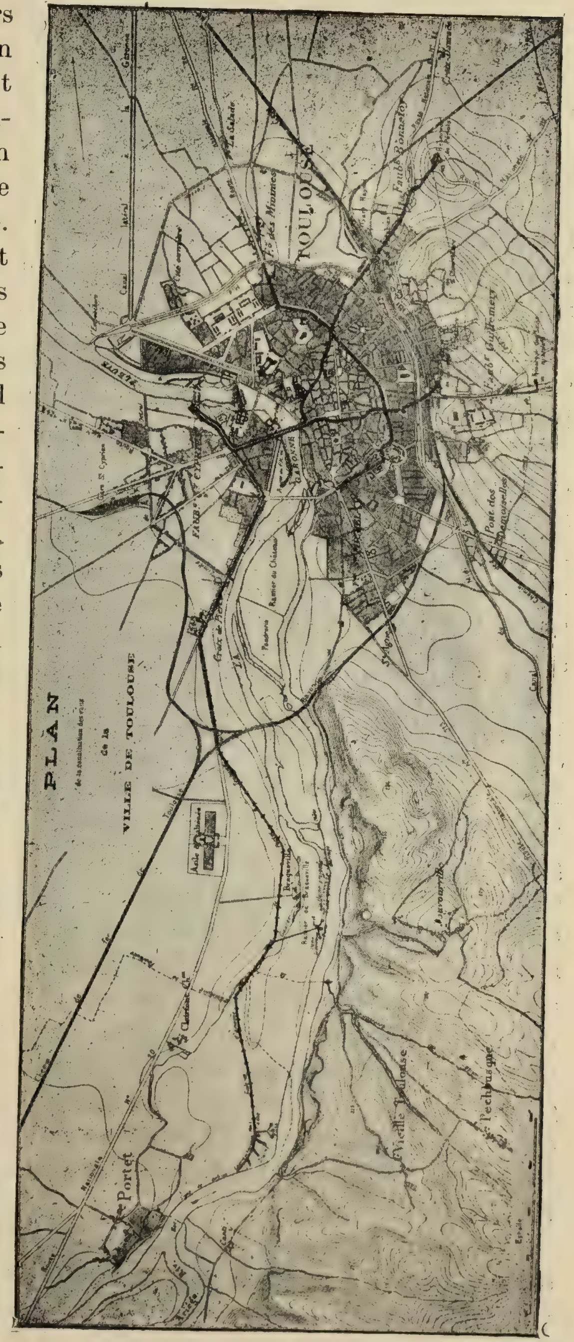


Fig. 2.

l'enceinte même de la ville. Les premiers cas apparurent fin juillet ; à l'asile, une infirmière employée à la buanderie fut tout d'abord frappée.

Vers la même époque, un cas se déclare dans la ville, *rue Matabiau* et un autre au 83me régiment d'infanterie à la caserne Pérignon, située près du réservoir d'eau de Guilheméry (fig. 2). Puis, brusquement, comme cela a lieu d'ordinaire dans les infections d'origine hydrique, 24 cas se produisent en août à l'asile ; la mortalité est de 4, dont deux infirmières. Dans la ville, pendant le même mois, on constate 8 cas à la caserne Pérignon, 2 au 23me régiment d'artillerie, soit 11 cas dans la garnison. Il est plus difficile d'avoir des renseignements sur la morbidité de la population civile, les déclarations ne se faisant pas régulièrement. C'est ainsi que 2 cas sont seulement déclarés, alors que la mortalité en accuse 9. En septembre, la morbidité décroît beaucoup à l'asile, grâce aux mesures prises pour enrayer l'épidémie ; elle tombe à 5, mais la mortalité se maintient encore élevée (4 cas). Dans la ville, un cas se produit à la caserne Pérignon ; un autre au 18me d'artillerie ; enfin, la nouvelle caserne dite caserne Niel où était logé le 126me régiment d'infanterie, située à Saint-Ague, très éloignée des autres, est à son tour touchée, mais encore faiblement, puisqu'on n'observe qu'un seul cas. Dans la population civile, l'épidémie entre aussi en décroissance ; 4 cas sont déclarés, la mortalité n'est plus que de 2, dont 1 étranger. Au total, la morbidité tombe à 12. En octobre, l'épidémie diminue encore. Trois cas sont signalés à l'asile, la mortalité est de 2. Néanmoins, le chiffre de la morbidité se maintient relativement plus élevé à l'asile que dans la ville. L'épidémie s'éteint d'abord à la caserne Pérignon, là où elle avait débuté. En novembre, elle se termine à Braqueville; mais elle traîne un peu à Toulouse, où 2 cas se déclarent dans la population civile et 5 dans la garnison, à savoir : 2 cas dans les casernes d'artillerie et 3 à la caserne Niel. Dans la ville, l'épidémie perd son caractère hydrique pour prendre celui d'épidémie par contact, alimentée par des foyers épars.

Cette épidémie a été particulièrement circonscrite ; elle a, en effet, entièrement évolué dans un quartier bien délimité de la ville. Sa répartition est pour ainsi dire calquée sur la disposition des gros troncs de la canalisation. Ceux-ci,en effet, au nombre de

deux, en se dirigeant vers les réservoirs placés en bout de la canalisation, passent l'un *rue Matabiau*, où s'est produit le premier cas dans la population civile, et aboutit au réservoir de Périole ; l'autre se déverse dans le réservoir de Guilheméry, près de la caserne Pérignon où se sont manifestés les premiers cas de la garnison. Ces deux gros troncs principaux sont réunis par une anastomose latérale, alimentant les casernes des 18e et 23e régiments d'artillerie, foyers secondaires de l'épidémie. Quant à la caserne Niel, la dernière infectée, elle n'est desservie que par les ramifications les plus périphériques de la canalisation. Il semble donc que les habitants placés à proximité des premiers conduits aient tout d'abord essuyé les effets d'une eau contaminée, et que de là les germes aient été véhiculés en des points plus éloignés. Les conduites qui amènent les eaux aux réservoirs font, en effet, le *service en route*, c'est-à-dire distribuent de l'eau avant leur arrivée aux réservoirs. Ces derniers ne servent pas à emmagasiner seulement l'eau, ce sont, avant tout, des régulateurs de la pression dans la canalisation. Peut-être n'est-il pas inutile de faire remarquer que ces réservoirs sont très mal protégés et que le nombre de germes s'y élève d'une façon considérable (1100 par centimètre cube à Guilheméry, 2,700 à Périole).

A Braqueville on a incriminé le puits de la buanderie. Le Conseil départemental d'Hygiène fut saisi d'une demande d'autorisation du directeur-médecin de l'asile, pour la construction d'un nouveau puits. Il est vraisemblable d'admettre que la contamination du puits de l'asile n'est que l'expression de l'infection de la nappe phréatique. Or, cette dernière a une direction S.E.N.O. Dans sa marche vers le fleuve, après avoir lavé le sous-sol de l'asile, elle coupe la conduite d'amenée des eaux, insuffisamment protégée et a toute facilité de la contaminer ; de là, les germes peuvent être charriés dans la ville. Cette conduite d'eau représenterait ainsi le trait d'union reliant entre eux les deux foyers épidémiques de l'asile et de la ville. Ce n'est là, toutefois, qu'une hypothèse, une enquête de cette nature étant difficile à faire d'une manière complète. Ces faits représentent néanmoins un ensemble de probabilités troublantes. L'épidémie, tant par sa brusque apparition que par son mode de distribution, n'en a pas moins revêtu un cachet hydrique des plus nets. D'ailleurs, le colibacille, généralement peu abondant dans la canalisation (on

doit opérer sur des échantillons de 100 c. c, à 200 c. c. pour l'isoter), s'était considérablement accru pendant l'épidémie, car on pouvait l'isoler dans un centimètre cube d'eau prélevée au robinet du laboratoire. Il est intéressant de noter, à cette occasion, l'importance de la recherche du colibacille dont le témoignage en fait d'infection prend une haute valeur.

CONCLUSIONS

En résumé, de cet ensemble de faits observés depuis nombre d'années à Toulouse, nous pouvons conclure que :

1° La présence du colibacille dans nos eaux est intimement liée à l'existence de causes de contamination ; son abondance est également en rapport avec l'importance de ces causes. — Le colibacille, incapable de constituer un danger bien grave par lui-même, apparaît plutôt comme un témoin d'infection. Il ne doit donc pas descendre au rang de saprophyte banal, où on le place parfois, et il semble bien être d'origine intestinale. De ce fait, sa recherche et l'étude de ses variations quantitatives dans les eaux potables présentent un grand intérêt au point de vue hygiénique ;

2° Dans les galeries dites filtrantes, en particulier, les variations quantitatives du colibacille sont fonction de la pression. La filtration ne s'effectue, en effet, d'une manière satisfaisante que lorsque la charge né dépasse pas certaines limites. D'autre part, la constance de cette dernière, comme on l'a observé depuis, dans les filtres à sable, est un élément indispensable de bonne filtration. Or, tandis, que chez ceux-ci la charge peut être *réglée* et maintenue *constante*, dans les filtres naturels elle est essentiellement *variable* et reste livrée aux caprices des cours d'eaux. L'emploi des galeries captantes doit donc inspirer quelque méfiance à l'hygiéniste, lorsqu'il s'agit de l'alimentation des villes en eau potable

---

Sur une nouvelle forme de diplocoque.

TETRADIPLOCCUS FILIFORMANS "Lodzensis"

Par les Drs S. BARTOSZEWICZ et J. SCHWARZWASSER

Laboratoire chimico-bactériologique de la ville de Lotz.

Dans les nombreux puits de la ville de Lodz on peut trouver cette forme que nous avons isolée sur les cultures plates de Petri.

Observé dans une goutte de bouillon (chambre humide), il se montre groupé en tétrade de telle manière que les quatre sommets de la figure sont occupés par un diplocoque, en formant un carré régulier ou un rhombe. Très souvent plusieurs tétrades se combinent par deux ou trois, formant des figures semblant irrégulières mais toujours composées de tétrades.

Fig. 1.

Les individus provenant de cultures fraîches possèdent un vif mouvement, principalement autour de l'axe diagonal, avec un faible déplacement progressif.

La coloration, d'après Lœffler, n'a pas démontré l'existence de cils moteurs.

Quelquefois, on peut voir seulement deux ou trois diplocoques quand la tétrade se présente de côté, mais bientôt la forme de tétrade redevient apparente.

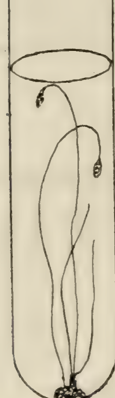
Tous ces aspects deviennent encore plus visibles quand on colore avec du bleu de méthylène la culture vivante sur agar et si on l'examine ensuite dans une goutte de bouillon.

Les dimensions des tétrades sont 4-6 μ; T. F. donne des cultures à la température 14-16° C, mais les meilleurs résultats sont obtenus à l'étuve, à la température de 30-34° C. Sur les plaques de gélatine et à la surface on voit se développer des colonies blanchâtres (gris de perle) ne liquéfiant pas la gélatine.

La culture en bouillon montre, après 18-24 heures, un aspect caractéristique : on aperçoit au milieu du tube un filament très fin et délicat qui monte du fond jusqu'à la surface du bouillon, pour y reprendre la direction vers le fond ; les filaments présentent, après quelques jours, des engourdissements et augmentent en quantité; ils rappellent l'aspect de filaments de l'urine gonor-

rhéique et ressemblent aussi un peu à la texture des arachnoïdées aquatiques.

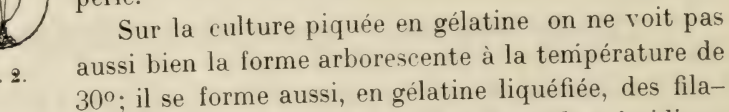
Toutes ces observations ont été faites avec les cultures au thermostat 30-34° C. A la température normale de la chambre, les filaments ne se forment point. Après 5-6 jours tous les filaments tombent au fond du tube en formant le sédiment muqueux qui s'étire facilement en fils.


Fig. 2.

Observés au grossissement de 750-800 du microscope, les filaments semblent être composés de tétrades unies par leurs fouets et un peu de matière muqueuse.

Sur l'agar T. F. forme une couverture blanchâtre, brillante. La culture en piqûre a l'apparence d'un arbre renversé au milieu de la gélose, et sur la surface on voit la forme d'une marguerite. Sur les plaques de Petri, ils forment de petits boutons couleur gris perle.

Sur la culture piquée en gélatine on ne voit pas aussi bien la forme arborescente à la température de 30°; il se forme aussi, en gélatine liquéfiée, des filaments semblables à ceux déjà décrits qui, après le refroidissement, restent emprisonnés dans la gélatine et peuvent être conservés très longtemps avec leur aspect caractéristique.



Sur le sérum du sang, l'aspect de la culture est le même que sur la gélose.

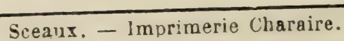
Sur les pommes de terre la culture ne réussit pas.

Les diplocoques ont le caractère d'aérobie et, dans l'atmosphère de CO^2, la culture ne réussit pas.

Les expériences faites sur les lapins démontrent que le microorganisme n'est pas pathogène, qu'on inocule la culture en bouillon dans le sac conjonctival ou sous la peau.

La coloration est facile avec de la fuchsine et du bleu de méthylène ; la méthode de Gram réussit bien

Comme signe différentiel il faut remarquer la formation des filaments en bouillon et en gélatine liquéfiée, qui n'est jamais aussi prononcée dans d'autres formes des bactéries.



Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

22me ANNÉE DÉCEMBRE 1908 N° 12

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Études sur la flore intestinale

Par M. Élie METCHNIKOFF

Putréfaction intestinale.

I

INTRODUCTION

Bien que l'on ait commencé les recherches sur la flore du tube digestif il y a déjà plus d'un quart de siècle, les connaissances actuelles sur le sujet sont encore fort imparfaites. Après la découverte mémorable du vibrion cholérique par *Robert Koch*, on s'est mis avec ardeur à rechercher les microbes qui causent la plupart des autres maladies intestinales. On a obtenu des résultats très importants avec la fièvre typhoïde, les affections paratyphiques et la dysenterie, mais on a été moins heureux dans la recherche des agents étiologiques des diarrhées infantiles. Et cependant c'est surtout là-dessus qu'avaient été dirigées les tentatives de nombreux chercheurs.

Après une longue période pendant laquelle on incriminait à tour de rôle plusieurs microbes de la flore intestinale, tels que le colibacille, les streptocoques, les *proteus* etc., on est arrivé à penser que les microbes ne jouent aucun rôle important dans l'étiologie des maladies intestinales des nourrissons. Aussi s'est-on arrêté dans ces derniers temps à une conception toute particulière de la cause de ces affections si graves. C'est le pédiâtre bien connu, *H. Finkelstein* (1), qui est le porte-parole de la

(1) *Ueber alimentäre Intoxication im Säuglingsalter, Iahrbuch. f. Kinderheilkunde, N. F.*, vol. LXV, 1907.

théorie moderne. Il combat l'origine microbienne des maladies intestinales des nourrissons et les explique de la façon suivante. Pour lui, « non seulement la croissance défectueuse, les vomissements, les diarrhées, mais aussi les graves symptômes d'intoxication générale, l'ascension de la température jusqu'aux degrés les plus élevés de l'état fébrile, les accidents cholériformes et semblables à la fièvre typhoïde peuvent être produits par une digestion anormale de la nourriture (p. 265).

Finkelstein se repent d'avoir longtemps partagé l'opinion erronée et courante que les troubles fébriles, débutant par des manifestations générales, ne peuvent être que l'œuvre des bactéries et se félicite d'être arrivé à la conclusion que les états prolongés fébriles, semblables à la fièvre typhoïde et au choléra, peuvent dépendre exclusivement des influences alimentaires et cèdent toujours à une diète appropriée (p. 276); *Finkelstein* accepte comme démontré que les poisons de l'état d'intoxication ne doivent point être cherchés dans les produits de décomposition du contenu intestinal par les bactéries, mais sont dus aux échanges nutritifs (p. 279).

Mais sur quoi repose une affirmation si formelle? Le principal argument de l'auteur consiste dans la constatation de la grande influence de la nourriture sur la nature de la maladie. Celle-ci suit souvent, avec une précision mathématique, les changements quantitatifs et qualifitatifs de la nourriture; elle cesse avec certaines diètes et se développe avec une grande énergie sous l'influence d'une modification insignifiante du régime. Des rapports tellement réguliers ne sont point compatibles avec l'activité des êtres vivants. Ceux-ci, justement parce qu'ils mènent leur vie propre, accomplissent leurs décompositions selon leur volonté et indépendamment de règles fixes (p. 281).

La preuve de l'exactitude d'une pareille théorie, *Finkelstein* la voit dans le fait que l'intoxication n'est liée à aucune flore déterminée, mais se rencontre avec des tableaux les plus divers de la flore bactérienne (p. 284). Ainsi, chez un enfant de huit mois, mort d'intoxication, les frottis et les cultures de toutes les parties du tube digestif n'accusaient que des cocci et des bâtonnets ne prenant pas la coloration de *Gram*. Chez deux autres nourrissons, *Finkelstein* n'a trouvé presque aucun microbe, sauf des bacilles coliformes.

Des indications bactériologiques très superficielles de l'auteur, il résulte tout de même que, sur sept cas d'intoxication intestinale mortelle, il ne s'en est pas trouvé un seul avec la flore intestinale normale. Tantôt c'était le bacille pyocyanique qui était prédominant, tantôt ce rôle était joué par les bacilles du groupe coli ou bien des streptocoques.

Les arguments tirés de l'examen de la flore intestinale ne sont rien moins que probants, tandis que le fait de la grande influence de la nourriture sur la marche de la maladie ne se trouve aucunement en opposition avec le rôle étiologique des bactéries. Il est connu depuis longtemps que la flore intestinale change avec la nature des aliments. Ainsi *Macfadyen*, *Nencki* et *Sieber* (1) ont établi, chez une femme opérée portant un anus contre nature, que les microbes changeaient d'espèces lorsque le régime carné était remplacé par la purée de petits pois. Le genre de nourriture exerce aussi une influence sur la production des toxines par les bactéries. On sait à quel point les microbes sont sensibles aux modifications les plus légères introduites dans leur alimentation. Souvent il suffit de changer la marque de peptone pour voir un rendement de produits microbiens varier dans une forte proportion.

Une simple expérience, que nous avons exécutée plusieurs fois, nous renseigne sur cette question. On ensemence un peu de matières fécales dans deux ballons, dont l'un est rempli de viande dans de l'eau, tandis que l'autre contient des légumes hachés, additionnés d'eau. Au bout de deux jours, le liquide du premier ballon devient fortement toxique pour le lapin, tandis que celui du second reste absolument inoffensif. La flore bactérienne est aussi très différente dans les deux ballons.

Il ne peut être nié que la diète hydrique, ou n'importe quel changement dans la nature des aliments, peut exercer une influence sur la nature et les propriétés des microbes intestinaux. Il est donc facilement concevable que les microbes, sous l'action de ces changements, se présentent comme plus ou moins nuisibles à l'organisme.

En France, la théorie de *Finkelstein* a été soutenue par *Nobécourt* et *Rivet* (2), qui pensent que les modifications de la

(1) *Archiv. f. experiment. Pathologie*, 1891, vol. XXVIII, p. 311.
(2) *Semaine médicale*, 1907, 30 octobre, p. 517.

flore bactériologique des selles, dans certaines affections gastro-intestinales des nourrissons, ne peuvent être considérées que comme des témoins, comme la conséquence de facteurs qui règlent la composition du milieu intestinal, de l'alimentation, d'une digestion régulière ou troublée.

Tandis que les auteurs cités font la critique de l'opinion qui attribue, dans les maladies intestinales, un rôle important aux microbes, eux-mêmes acceptent d'un cœur léger l'existence de poisons actifs parmi les produits de la digestion des aliments.

Le problème de l'étiologie de la plupart des maladies du tube digestif ne peut être résolu que par des recherches de longue haleine, entreprises sur la flore intestinale de l'homme et des animaux à l'état normal et pathologique. Aussi nous sommes-nous mis depuis un an, avec nos collaborateurs et élèves, à étudier ce sujet d'une façon systématique. Dans l'impossibilité d'obtenir d'un seul coup l'aperçu de l'ensemble de la flore intestinale, nous nous sommes arrêtés d'abord aux bactéries protéolytiques. Nous espérons dans la suite apporter des résultats sur les microbes peptolytiques, les bactéries butyriques proprement dites, ainsi que sur les ferments lactiques du tube digestif.

II

BACTÉRIES PUTRÉFACTIVES DE L'INTESTIN

Lorsque, il y a déjà longtemps, on conçut l'idée que les maladies infectieuses doivent avoir la même cause que les décompositions des substances organiques, on a dû se baser sur les phénomènes de putréfaction dans la nature morte et dans l'organisme vivant. De même que des aliments divers se putréfiaient dans certaines conditions, de même on voyait se développer la pourriture soit dans un organe malade, soit dans les sécrétions ou excrétions anormales. L'odorat qui signalait que tel fromage ou tel autre aliment était pourri, servait aussi pour déterminer l'état morbide d'une personne qui émettait des déjections sentant la pourriture. De là probablement cette conception que toute pourriture doit être nuisible pour la santé. Cette opinion s'est enracinée si profondément dans les esprits qu'on a fini par l'accepter comme un dogme et qu'on ne se demandait même pas

sur quoi elle était basée. Aussi il est arrivé que dès que l'on s'est mis à étudier le sujet par des méthodes nouvelles, on s'est trouvé en présence de toutes sortes de contradictions.

Depuis longtemps, on avait constaté que les substances en putréfaction, telles que le sang, la viande, les matières fécales, etc., contenaient des poisons, dont l'effet était surtout manifeste lorsqu'on les injectait dans la circulation des animaux. On avait même fait de nombreux essais pour isoler et déterminer la nature chimique de ces substances toxiques. Dans ce but on faisait putréfier toutes sortes de matières animales et on en préparait des macérations dans l'eau. Ces recherches, n'ayant pas abouti à des résultats suffisamment précis, ont été presque entièrement abandonnées.

Plus tard, lorsqu'on s'était mis à étudier les maladies causées par certains aliments et interprétées comme intoxications alimentaires, on avait établi que, dans la très grande majorité des cas, il ne s'agit point d'action de substances putrides, ni d'intoxication d'aucune sorte, mais simplement d'infection de l'organisme par un groupe de microbes, intermédiaires entre le colibacille et le bacille typhique, microbes provenant d'animaux de boucherie malades. Sous l'impression de cette découverte, ou avait mis en doute le danger pour l'organisme d'aliments putréfiés. Mais on s'est souvenu que la consommation de gibier et de fromages pourris se faisait sans le moindre inconvénient et que certains peuples, comme les Indochinois, les Malais, les Polynésiens, les Groenlandais etc. ont une prédilection marquée pour le poisson et la viande pourris.

De ces faits, *van Ermenghem* (1) a conclu que la viande pourrie peut être le siège de changements divers, dont quelques-uns sont dus à la putréfaction proprement dite, tandis que d'autres s'en distinguent très notablement. Une pareille viande peut contenir des microbes infectieux et toxiques qui n'ont rien à faire avec les saprophytes communs de la putréfaction.

Un autre savant belge, *Malvoz* (2), a beaucoup soutenu la thèse de l'innocuité des aliments pourris. Il pense que, confor-

(1) Plusieurs mémoires, résumés dans *Kolle* u. *Wassermann*, *Handbuch d. pathogenen Microorganismen*, vol. II, 1903, p. 666.
(2) *De la putréfaction*, Bruxelles, 1898.

mément à l'aphorisme banal, tout ce qui pue ne tue pas, tout ce qui tue ne pue pas (p. 111). En dehors des arguments de son prédécesseur, il cite des expériences d'après lesquelles l'extrait de viande pourrie, injecté sous la peau d'animaux de laboratoire, peut être supporté sans danger et aussi le fait que l'intestin à l'état normal est un vrai foyer de putridité, habité par d'innombrables microorganismes décomposant les matières albuminoïdes et produisant une grande quantité de substances toxiques, sans occasionner pour cela de troubles à l'organisme qui les renferme.

Dans ces derniers temps, c'est encore un chercheur belge, *Faloise* (1), qui a essayé, en opposition à la thèse autrefois généralement admise, de démontrer l'innocuité des putréfactions intestinales. Résumant ses recherches, il arrive à cette conclusion, d'une importance capitale, que, à l'encontre de la théorie classique, la *toxicité n'est nullement en rapport avec les phénomènes de putréfaction* (p. 184). Nous avons déjà eu occasion de faire la critique des expériences de *Faloise* (2) et de démontrer qu'elles ne justifient point l'opinion de leur auteur. Le savant belge s'est contenté d'étudier la toxicité de matières fécales, qu'il identifie avec le contenu du gros intestin. Or, la paroi de cette partie du tube digestif, capable de résorber les poisons solubles, débarrasse précisément le contenu d'une grande partie de ses substances toxiques.

Dans le travail que nous avons déjà mentionné, *Finkelstein* cherche aussi à démontrer que les putréfactions intestinales ne jouent aucun rôle important dans les diarrhées des nourrissons, qu'il range dans la catégorie des intoxications. Le développement des putréfactions fétides apprend seulement — d'après lui (*l. c.* p. 283) que, dans les intestins d'un enfant déjà malade, peuvent s'introduire des phénomènes secondaires, dont la présence ou l'absence est absolument indifférente pour la conception de l'état général.

En France, les recherches dans cette direction ont été entreprises surtout par *Roger* et *Garnier* (3). Sans nier l'importance

(1) *Archives internationales de physiologie*, août 1907.
(2) Bactériothéraphie intestinale, dans *Gilbert* et *Carnot*, *Bibliothèque de thérapeutique*, 1909.
(3) *Presse médicale*, 1906, p. 325.

des putréfactions, ils pensent que le principal poison dans les auto-intoxications d'origine intestinale doit être placé dans l'organisme lui-même. Pour eux, les poisons élaborés par les microbes intestinaux ne joueraient qu'un rôle secondaire.

Dans l'intention d'approfondir ces recherches, *Roger* et *Garnier* (1) se sont mis à étudier de plus près la toxicité des diverses parties du tube digestif et de son contenu. Ils ont d'abord constaté, en conformité avec les résultats de *Cybulski* et *Tarkhanoff* (2), que l'effet toxique de l'intestin grêle est dû surtout aux sucs intestinaux, notamment au mélange du suc pancréatique avec le suc intestinal. Plus tard, *Roger* et *Garnier* (3) ont été amenés à étudier la nocivité de la viande putréfiée et, conformément aux recherches déjà anciennes de *Stich*, *Panum* et de toute une série de travaux de l'école de Dorpat, ils ont vu que la putréfaction en dehors de l'organisme augmente en très forte proportion la toxicité. Tandis qu'il a suffi d'injecter par kilogramme 4 c. c. de l'extrait de viande putréfiée pour amener la mort, l'extrait de viande fraîche n'est mortel qu'à la dose de 18 c. c.; encore est-il que l'animal ne succombe qu'au bout de plusieurs heures. Il ne faut pas perdre de vue que la viande soi-disant fraîche, c'est-à-dire la viande des boucheries, ne l'est point d'une façon absolue et qu'elle contient déjà toujours un bon nombre de microbes de putréfaction.

D'après ces expériences, *Roger* et *Garnier* se sont bien aperçus eux-mêmes que la théorie du manque d'importance des putréfactions intestinales ne peut plus être soutenue. Dans leur dernier mémoire (4) ils se posent la question : « Faut-il conclure que les putréfactions bactériennes sont dénuées de toute importance ? Nous ne le pensons pas. Mais nous croyons qu'il est utile d'en préciser le rôle, et c'est dans ce but que nous avons entrepris de nouvelles recherches. « Dans la série d'expériences exécutées dans cette intention, ils ont constaté que les résultats sont troublés par l'intervention des substances coagulantes des extraits intestinaux. Pour éliminer cette cause d'erreur, ils ont dû injecter de l'extrait de têtes de sangsues afin d'empêcher la coagulation du sang. Leurs résultats ont été tellement divers

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1908, 10 avril, p. 610.
(2) *Archives internationales de physiologie*, novembre 1907, p. 257.
(3) *C. R. de la Soc. Biologie*, 29 mai 1908, p. 883.
(4) *C. R. Soc. Biol.* 1908, 31 juillet, p. 202.

qu'ils ont reconnu eux-mêmes la nécessité de modifier leur méthode de recherches. « La variabilité des résultats tient à la complexité de l'expérience. Les bactéries qui interviennent sont trop nombreuses et trop variées. Aussi poursuivons-nous actuellement, disent *Roger* et *Garnier* (p. 205), des recherches sur l'action que peuvent exercer les principales bactéries anaérobies du gros intestin. »

Il est de toute évidence que les recherches sur la toxicité du contenu des diverses parties du tube digestif en bloc ne sont guère capables de résoudre le problème. Dans le contenu de l'intestin grêle, ce sont principalement les sucs digestifs qui sont toxiques, tandis que dans le gros intestin la plus grande part des poisons est fournie par les microbes. Ces divers poisons se comportent d'une façon toute différente. Les sucs digestifs se résorbent difficilement par la muqueuse, tandis que plusieurs, parmi les poisons microbiens, sont rapidement absorbés par la paroi du gros intestin.

Pour toutes ces raisons, nous avons commencé notre étude de la question par la recherche des microbes de putréfaction et de leurs produits toxiques.

Dans l'abondante littérature sur la flore intestinale, on peut trouver beaucoup de données, souvent d'un réel intérêt, sur les microbes putréfactifs. Mais ces renseignements sont très disséminés, assez incomplets et souvent très contradictoires. Aussi il n'est point étonnant que, dans les ouvrages qui résument les connaissances actuelles, on insiste sur le manque de notions précises sur les microbes du tube digestif capables de faire putréfier les substances albuminoïdes. C'est ainsi que *Gerhardt* (1), dans son rapport sur la putréfaction intestinale, atteste qu'il n'est possible d'avoir que des renseignements très peu précis sur la part que prennent les espèces bactériennes connues à la décomposition du contenu intestinal (p. 119). *Schmidt* et *Strasburger* (2), dans leur monographie sur les matières fécales de l'homme, sont encore plus catégoriques. « Tout compte fait, — disent-ils, — nous devons avouer que, d'après les recherches des dernières années, la solution de la question : Quelles bactéries jouent le rôle principal dans la fermentation et la putréfaction des matières

(1) *Ergebnisse der Physiologie*, 1904. 1re partie, p. 107.
(2) *Die Faeces des Menschen*, 2e édition, Berlin, 1905.

fécales, est reculée de nouveau dans un avenir plus lointain qu'il ne semblait après la clôture des travaux de *Schmidt*. Le problème demande encore des recherches très vastes, à l'aide de nouvelles méthodes de cultures. » (P. 206.)

Pendant des années on pensait que dans la putréfaction intestinale, de même que dans toutes sortes d'autres putréfactions, c'étaient des bacilles du groupe *Proteus* qui occupaient de beaucoup la première place. D'après *Hauser* (1), qui en a décrit plusieurs représentants, « toutes les espèces de ce genre provoquent la putréfaction. Notamment les *Proteus vulgaris* et *mirabilis* appartiennent certainement au nombre des bactéries putréfactives les plus actives et les plus répandues » (p. 88).

Depuis, plusieurs observateurs, parmi lesquels nous citerons *San Felice*, *Kuhn* et *Bordas*, ont soutenu la thèse que le *Proteus* doit être considéré comme le principal agent de la putréfaction. Comme cette bactérie est une aérobie, son rôle putréfactif servirait à renverser la théorie de *Pasteur* (2), pour qui la vraie putréfaction est toujours l'œuvre de microbes strictement anaérobies appartenant au genre *Vibrio*.

Quelques auteurs ont nié le pouvoir des *Proteus* d'attaquer les substances albuminoïdes proprement dites. Ainsi *Rettger* (3) a vu que le blanc d'œuf restait inaltéré dans les cultures de ce microbe. Seulement, sous l'influence de ce dernier, les anaérobies de la putréfaction arrivaient à détruire l'albumine beaucoup plus rapidement que sans son concours. Mais, d'après les recherches de *Tissier* et *Martelly* (4), on ne peut plus mettre en doute le pouvoir du *Proteus vulgaris* d'attaquer les substances albuminoïdes, telles que fibrine et caséine, en dégageant des gaz fétides.

Il faut donc accepter que la putréfaction peut être accomplie par certains aérobies. Seulement, au point de vue qui nous intéresse particulièrement, il est nécessaire d'établir si les *Proteus* sont des agents constants de putréfaction intestinale. Après la constatation de ce microbe dans les selles de plusieurs malades, nourrissons et adultes,, quelques auteurs ont supposé que le *Proteus vulgaris* devait être considéré comme un hôte habituel

(1) *Ueber Fäulnissbacterien*, Leipzig, 1885.
(2) *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1863, vol. LVI, p. 1189.
(3) *Journal of biological Chemistry*, 1906, p. 81.
(4) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1902, p. 884.

du tube digestif de l'homme. Mais une étude plus complète de *Feltz* (1) a démontré qu'il n'en est pas ainsi. Sur douze hommes sains, cette bactérie n'a pu être trouvée que dans deux cas. Même chez les malades atteints de diarrhée, le *Proteus vulgaris* a été rare. *Tissier*, qui est certainement le meilleur connaisseur de la flore intestinale humaine, ne l'a trouvé que dans les déjections pathologiques et le considère partant comme un microbe pathogène proprement dit.

Malgré l'attention dirigée particulièrement sur ce point, dans nos recherches prolongées sur les matières fécales de plusieurs personnes, nous n'avons jamais rencontré les microbes du genre *Proteus*. Ces bactéries putréfactives ne peuvent donc être considérées comme des facteurs importants des putréfactions intestinales. Ce rôle doit être plutôt attribué aux anaérobies.

III

LE BACILLUS PUTRIFICUS

Bien que quelques aérobies soient capables de provoquer la putréfaction des substances albuminoïdes, celle-ci est le plus souvent l'œuvre des bactéries anaérobies, ainsi qu'il a été établi par *Pasteur*. Dans ces derniers temps, cette thèse a été confirmée par des recherches minutieuses de *Bienstock* (2), suivies de celles de *Tissier* et *Martelly* (*l. c.*) et de *Rettger* (*l. c.*).

Pour ce qui concerne nos expériences, nous nous sommes servi de contenu intestinal prélevé sur le cadavre, ainsi que des matières fécales de personnes normales ou atteintes de maladies du tube digestif. Nous ensemencions ces matériaux dans du bouillon peptoné, additionné de blanc d'œuf coagulé, dans du lait et dans des tubes de gélose additionnée de glucose et de sérum de cheval. Quelquefois nous faisions nos cultures dans de l'urine albumineuse et dans du sérum sanguin liquide.

Puisque dans la putréfaction cadavérique, ainsi que dans celle de la viande de boucherie et du lait, c'est le *Bacillus putri-*

(1) *Le Proteus vulgaris*. Paris, 1900.
(2) *Zeitschrift f. klinische Medicin*, 1884, vol. VIII.

ficus qui joue un rôle prépondérant, et puisque dans ces exemples c'est le contenu intestinal qui fournit la semence du microbe, il a été tout naturel de supposer que le bacille de *Bienstock* devrait faire partie de la flore de l'intestin normal de l'homme : Ceci d'autant plus que le *Bacillus putrificus* a été découvert précisément dans les matières fécales humaines. Mais, d'après ses recherches ultérieures, *Bienstock* (1) est arrivé à la conclusion que son bacille ne se rencontre jamais dans le tube digestif de l'homme sain. Cette opinion a été combattue par plusieurs observateurs, parmi lesquels nous citerons surtout *Passini* (2) Il lui a été possible, en ensemençant des matières fécales d'homme de tous les âges, sans excepter celles des nourrissons élévés au sein, dans du bouillon additionné de blanc d'œuf cuit, de récolter des bacilles en forme de baguette de tambour et se présentant sous tous les rapports comme identiques avec le *Bacillus putrificus*. Seulement *Bienstock* (3) n'accepte pas cette conclusion. Après avoir sans succès cherché son microbe dans le contenu intestinal d'un grand nombre de personnes, il a isolé, chez quelques-unes d'entre elles, un bacille très voisin du *Bacillus putrificus*. C'est encore un bâtonnet à bouts arrondis, mobile et muni de cils nombreux, prenant le *Gram* et strictement anaérobie. Il est même capable d'attaquer les substances albuminoïdes naturelles, mais, à l'encontre du vrai *Bacillus putrificus*, le nouveau microbe fait fermenter les sucres. Ensemencé dans du lait, il attaque le lactose et coagule la caséine qui reste indéfiniment intacte, tandis que le *Bacillus putrificus*, dans les mêmes conditions, digère la caséine en donnant des produits fétides. Pour *Bienstock*, *Passini* a dû avoir entre ses mains ce nouveau bacille, auquel le premier donne le nom de *Bacillus paraputrificus*.

Bienstock insiste sur la grande différence entre ces deux microbes anaérobies. Le *Bacillus putrificus* est un vrai bacille putréfactif; il ne vit pas dans le tube digestif de l'homme. Même, si on avale de ses spores, elles n'arrivent pas à germer et sont rapidement détruites. Au contraire, le *Bacillus paraputrificus*, hôte de la flore intestinale humaine, bien qu'inconstant, non

(1) Ces *Annales*, 1899, p. 854, et *Archiv. f. Hygiene*, vol. XXXVI, 1889, p. 335.
(2) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1905, vol. XLIX, p. 135.
(3) *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1906, p. 407.

seulement ne produit pas de putréfaction, mais est même capable de la gêner. Ensemencé dans le même milieu avec le *Bacillus putrificus*, il l'empêche d'attaquer la caséine.

La question valait la peine d'être tirée au clair. Déjà *Rettger* (1) s'est prononcé contre *Bienstock*. En ensemençant des quantités variables de matières fécales d'homme dans un milieu approprié, sur dix-huit échantillons il a vu pousser le vrai *Bacillus putrificus* dans dix cas. Seulement, pour obtenir ce résultat positif, il lui a fallu ensemencer 8 à 32 milligrammes de matières fécales. *Rettger* insiste sur l'identité du microbe isolé par lui avec le *Bacillus putrificus* et pense que celui-ci ne se trouve dans le contenu intestinal de l'homme sain que sous forme de spores. Ces dernières, bien capables de résister aux influences nuisibles du tube digestif, n'arrivent pas cependant à germer et à donner une génération nouvelle de bâtonnets.

Dans nos propres recherches, nous avons pu également nous assurer de la présence du vrai *Bacillus putrificus* dans le contenu intestinal de l'homme sain. Ainsi, chez une personne émettant journellement une selle, bien que souvent de consistance dure, ce microbe a pu être retrouvé à l'aide de la méthode que nous avons indiquée. Il est plus facile de s'assurer de sa présence en ensemençant les matières fécales d'abord dans du bouillon peptoné auquel on ajoute un petit morceau de blanc d'œuf cuit. Après plusieurs jours, lorsque le blanc d'œuf est déjà



Fig. 1. — *Bacillus putrificus* des matières fécales de personne saine.

visiblement attaqué, on réensemence dans la gélose glucosée profonde et on finit par isoler des colonies chevelues bien caractéristiques du *Bacillus putrificus*. Ensemencé dans du lait, il y pousse suffisamment sans coaguler la caséine. Après quel-

(1) *Journal of Biological Chemistry*, vol. IV, 1908, p. 45.

ques jours de développement, celle-ci commence à être digérée. Le liquide devient jaunâtre et répand l'odeur fétide particulière. Dans des vieilles cultures avec le blanc d'œuf, autour de ses débris se dépose un pigment noir, caractéristique du *Bacillus putrificus*.

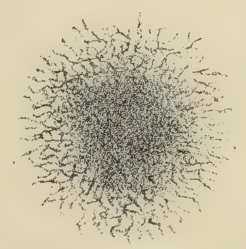


Fig. 2. — Colonie du *bacillus putrificus* en gélose glucosée.

La présence de ce microbe dans le contenu intestinal humain peut être démontrée encore d'une autre façon. On prélève, à l'autopsie d'un cadavre d'homme conservé à la glacière, des fragments du tube digestif que l'on retire aseptiquement et que l'on introduit aussitôt dans des verres stériles. En les laissant à une température convenable, on retrouve bientôt des bâtonnets sporulés en baguette de tambour, dans lesquels on reconnaît le *Bacillus putrificus*.

Ce dernier microbe, en dehors des méthodes sus-indiquées pour révéler sa présence, peut encore, selon les indications de *Bienstock*, être obtenu en ensemençant les matières fécales ou le contenu de l'iléum et du cœcnm dans de l'urine albumineuse. Nous avons plusieurs fois obtenu de cette façon un résultat positif.

La présence fréquente du *Bacillus putrificus* dans le contenu intestinal explique facilement le fait établi par *Bienstock* lui-même, à savoir que ce microbe se trouve régulièrement dans les cadavres humains. Puisque la putréfaction après la mort part de l'intestin, c'est de cette source que proviennent les nombreux bacilles en baguettes de tambour que l'on trouve dans la sanie cadavérique. Il se produit dans ces conditions une forte multiplication du *Bacillus putrificus*, qui est beaucoup moins nombreux dans le contenu intestinal de l'homme vivant.

Quant au *Bacillus paraputrificus*, de *Bienstock*, il ne nous

est pas possible pour le moment d'en préciser la nature. Il se peut que certaines variétés du *Bacillus putrificus* s'adaptent quelquefois à attaquer les sucres d'une façon beaucoup plus intense que la race type. Il faudrait donc chercher des bacilles intermédiaires entre le *Bacillus putrificus* et le *Bacillus para-putrificus*. Mais, dans tous les cas, il reste bien démontré que le premier de ces microbes est un des représentants de la flore intestinale humaine.

IV

LE BACILLUS SPOROGENES

Il a été affirmé à plusieurs reprises que le contenu de l'intestin de l'homme nourrit régulièrement le vibrion septique de *Pasteur*, désigné souvent sous le nom du bacille de l'œdème malin. *Macé* (1) pense qu'il « doit certainement exister dans le contenu intestinal à l'état normal, bien qu'il n'en ait pas encore été isolé. »

D'autres observateurs n'ont pas pu confirmer cette supposition. Ainsi, *Passini* (*l. c.* p. 143) affirme ne l'avoir jamais pu trouver. *Rettger* (2e mémoire, p. 52) ne l'a isolé que dans des cas rares et encore pense-t-il qu'il ne se trouve dans le contenu intestinal qu'à l'état de spores incapables de germer.

Il nous semble probable que, pour le vrai vibrion septique, a été pris un bacille anaérobie que nous avons trouvé presque dans tous les échantillons de contenu intestinal que nous avons étudiés. En examinant des préparations de matières fécales, ou de contenu de cæcum, on rencontre souvent de gros bacilles à bouts plus ou moins arrondis et contenant une spore ovale à l'intérieur. Pour les obtenir en cultures pures, on ensemence le contenu intestinal dans des tubes de bouillon, additionné d'un cube de blanc d'œuf dur, et on le cultive à l'abri de l'air. Au bout de peu de jours on voit apparaître un grand nombre de gros bacilles, prenant le *Gram* et faiblement mobiles quoique pourvus de nombreux cils. Ils produisent facilement des spores qui résistent à la température de l'ébullition de l'eau. Grâce à cette propriété, il suffit d'ensemencer une trace de culture dans des

(1) *Traité pratique de Bactériologie*, 6e édition, 1901, p. 657.

tubes de gélose glucosée, en profondeur, ou dans des tubes de bouillon, avec blanc d'œuf, ou dans du lait que l'on fait bouillir aussitôt après l'ensemencement. Le lendemain on obtient des cultures le plus souvent composées uniquement du microbe en question. Dans la profondeur de la gélose disloquée par les gaz, il donne des colonies composées d'une partie centrale, munie d'appendices sous forme de bourgeons ou de filaments plus ou moins longs et ramifiés.

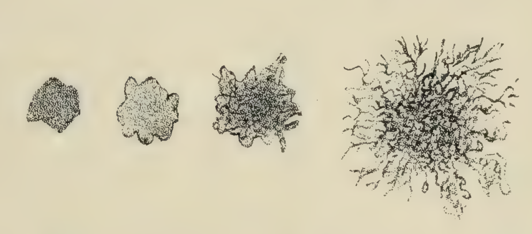


Fig. 4. — Colonies du *bacillus sporogenes*, variété B, dans la profondeur de la gélose glucosée.

(Fig. 3-5). Les bacilles qui les constituent sont tantôt isolés, tantôt réunis en chaînettes de longueur différente. Un grand nombre renferme une spore ovale placée soit au centre du bâtonnet, soit au voisinage de l'un des pôles.



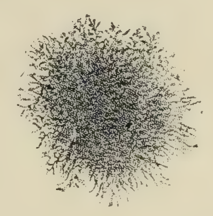


Fig. 3, 5. — Colonies de variété A, en gélose glucosée.

(Fig. 6). Ce microbe présente d'un côté une certaine ressemblance avec le *Bacillus putrificus* (mobilité forme des colonies chevelues en gélose, facilité de sporulation), et de l'autre il accuse une analogie avec le *Bacillus aerogenes capsulatus* de *Welch* et *Nuttall* (grosseur du bacille, forme générale du bâtonnet, aspect de colonies jeunes sur gélose). Nous pensons que notre anaérobie se rapproche le plus du *Bacillus enteritidis sporogenes*, décrit par *E. Klein* de Londres (1). Il s'agit d'un bâtonnet anaérobie rencontré en grande quantité dans les matières fécales de plusieurs personnes, atteintes simultanément d'une forte diarrhée à la suite de l'absorption d'un lait qui renfermait le même microbe.

Pour ce qui nous concerne, nous avons trouvé un bacille très voisin, sinon le même, chez presque tous les hommes sains ou atteints de troubles légers, tels que constipation habituelle de peu d'importance. Dans un cas de colite chronique, nous

avons été très surpris de voir, sur des frottis des matières diarrhéiques, une quantité extrêmement grande de spores logées dans des bacilles du même type que ceux de *Klein* (fig. 7). Il a été facile de les isoler en culture pure et d'établir leur analogie avec les bâtonnets anaérobies du contenu intestinal normal.



Fig. 6. — Variété A. Culture en bouillon avec blanc d'œuf dur.

L'étude détaillée de ces microbes nous a montré qu'il s'agit très probablement d'une seule et même espèce qui présente des variations assez considérables et qui doit être rangée dans la catégorie des bactéries putréfactives. Ensemencés dans les milieux albumineux, ces bacilles attaquent l'albumine de l'œuf et la caséine, produisant des substances fétides. Au point de vue morphologique, il faut signaler les différences dans l'aspect des bâtonnets, cultivés dans le lait stérilisé et dans l'eau physiologique à laquelle on ajoute un cube de blanc d'œuf dur. Le bacille de l'homme sain (variété A) ne se présente dans ces milieux que sous forme de bâtonnets et de filaments minces, souvent réunis par plusieurs. Les spores, dans ce cas, occupent le voisinage d'un des pôles, sans produire de renflement tant soit peu accusé (fig. 8). La race isolée du cas de colite chronique (variété B) se développe beaucoup plus abondamment dans le lait et dans l'eau physiologique, additionnée de blanc d'œuf. La culture, plus riche, est composée de bacilles isolés ou réunis en chaînettes, beaucoup plus gros que dans la variété A (fig. 9).



Fig. 7. — Préparation des déjections diarrhéiques d'un cas de colite chronique.

Les deux variétés se développent très copieusement dans

(1) *Centralblatt f. Bakteriologie*, 1895, vol. XVIII, p. 737.

le bouillon glucosé additionné d'un morceau de blanc d'œuf. Elles produisent des cellules à bouts très arrondis et se présentent souvent sous une forme ovoïde. Les spores ovales qui se développent dans ces conditions occupent juste le milieu de la cellule (fig 6). Un développement presque aussi abondant s'observe aussi dans la macération stérilisée de viande dans de l'eau. Dans ces conditions, les bacilles de la variété B accusent dans leur contenu le dépôt de pigment très noir (fig. 10).

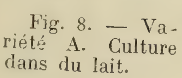


Fig. 8. — Variété A. Culture dans du lait.

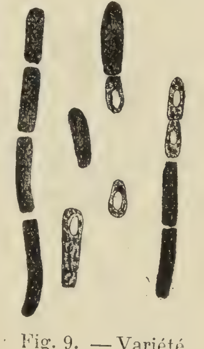


Fig. 9. — Variété B. Culture dans du lait.

Dans tous les milieux de culture, sucrés aussi bien que privés de sucre, les spores se développent avec grande facilité, rappelant en cela le *Bacillus putrificus*

Comme particularité digne d'être mentionnée, je dois citer la coloration, brun violet, par la solution iodo-iodurée, des bacilles de la variété *B*, cultivés dans la gélose glucosée



Fig. 10. — Variété B. Culture dans de la viande.

Dans le contenu intestinal de l'homme, le bacille en question trouve certainement des conditions favorables, car il s'y développe sous forme de gros bâtonnets à bouts arrondis ou de cellules ovales. Dans le bout inférieur de l'iléum et dans le cæcum d'une jeune femme morte de fièvre puerpérale en hiver et dont le cadavre a été conservé à la glacière, les bacilles se présentaient soit isolés, soit réunis en chaînettes et souvent munis de spores ovales (fig. 11). Ce fait, ainsi que tout un ensemble d'autres, fournissent la preuve que le bacille que nous désignerons sous le nom de *Bacillus sporogenes* se trouve dans le contenu intestinal non seulement sous forme de spores, mais aussi et surtout dans son état végétatif. Bien qu'il soit impossible pour le moment de considérer ce microbe comme le vrai vibrion septique, il se peut qu'il en représente des variétés atténuées

dans des conditions particulières. Dans tous les cas, le *Bacillus sporogenes* appartient au groupe du vibrion septique.

M. *Berthelot*, de notre service, a fait l'étude chimique des variétés A et B.-M. *Jungano* nous a aidé à isoler le *Bacillus sporogenes* dans plusieurs exemples et M. *Burnet* a coloré les cils vibratiles.

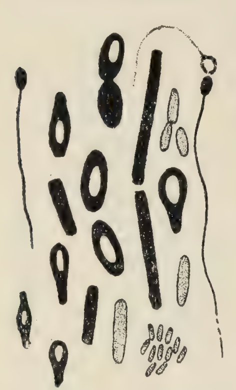


Fig. 11. — Contenu du bout inférieur de l'iléum.

V

LE BACILLUS WELCHII

Si la présence normale du *Bacillus putrificus* et du *Bacillus sporogenes* dans le contenu intestinal de l'homme a soulevé des contradictions, il n'en est pas de même pour ce qui concerne le troisième bacille anaérobie de la flore intestinale, c'est-à-dire le *Bacillus perfringens* de *Veillon* et *Zuber*. Tous les chercheurs acceptent à l'unanimité la présence, dans cette flore, d'un gros bâtonnet prenant le *Gram* et capable d'attaquer les substances albuminoïdes naturelles. Il est difficile d'en faire exactement l'historique, vu la grande fréquence de ce microbe, qui devait se présenter à l'attention des observateurs depuis le commencement des recherches bactériologiques.

Il paraît que le bacille en question a été pour la première fois décrit par *Rosenbach*, dans sa *Monographie des microbes des maladies infectieuses des plaies*, en 1884. Quelque temps après, il a été observé par *Doyen*, *Levy* et *Klebs*. Les premières cultures ont été obtenues en 1891 par *Achalme* (1) qui pensait que le bacille anaérobie était l'agent étiologique du rhumatisme articulaire aigu. L'année suivante, apparemment le même microbe a été bien décrit par *Welch* et *Nuttall* (2), qui l'ont trouvé sur un cadavre d'homme. Ils l'ont dénommé *Bacillus aerogenes capsulatus*. *E. Fraenkel* (3) en a donné la description détaillée et l'a désigné comme cause de la gangrène gazeuse. Quelques

(1) *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1891, p.
(2) *Bulletin John Hopkins Hospital*, 1892, vol. III, p. 81.
(3) *Centralblatt f. Bakteriologie*, 1893, vol. XIII, p. 13.

années plus tard, *Veillon* et *Zuber* (1) l'ont trouvé dans le pus de l'appendicite et des suppurations fétides en général. C'est alors qu'ils ont décrit ce microbe sous le nom actuellement si répandu de *Bacillus perfringens*.

Dans ces dernières années, ce bacille, que nous désignerons, selon la nomenclature de *Migula*, sous le nom de *Bacillus Welchii*, a fait le sujet d'un grand nombre de recherches. D'abord il a été reconnu comme hôte habituel de la flore intestinale de l'homme et de beaucoup de vertébrés. Pour ce qui concerne l'homme adulte, le fait a été établi à l'unanimité par un grand nombre de chercheurs. Quant aux nourrissons au sein, la présence constante chez eux, à l'état de santé, du *Bacillus Welchii* a été récemment constatée par *Sittler* (2). D'après lui, ce microbe résiderait principalement dans le mucus qui enduit les parois intestinales.

Il suffit d'examiner des frottis faits avec des matières fécales ou avec le contenu de gros intestins d'homme, et de les colorer par la méthode de *Gram*, pour reconnaître de gros bacilles aux bouts coupés ou faiblement arrondis, qui sont les bacilles de *Welch*. Leur nombre est généralement restreint, bien qu'on en trouve plusieurs sur chaque champ du microscope. Quelquefois cependant ils deviennent beaucoup plus nombreux. *Herter* (3) pense que leur action putréfactive est surtout prononcée dans la vieillesse.

Les auteurs américains, qui se sont beaucoup occupés du bacille en question, emploient pour l'isoler la méthode suivante. Ils injectent dans la circulation de lapins un peu de matières fécales délayées, après quoi ils tuent l'animal et l'abandonnent pendant un temps plus ou moins prolongé à l'étuve. Le bacille de *Welch* se développe abondamment dans le sang du cadavre et peut être facilement cultivé dans des milieux appropriés, tels que la gélose glucosée et autres. Nous nous servons depuis longtemps, comme plus pratique, d'une méthode qui a été récemment décrite par *Rettger*. On ensemence un peu de matières fécales dans du lait stérilisé que l'on chauffe ensuite à l'ébullition. La crème qui surnage à la surface protège le lait contre

(1) *Archives de médecine expérimentale*, 1898, p.
(2) *Centralbl. f. Bakteriologie*, juin et juillet 1908, vol. XLVIII, p. 14 et 145.
(3) *The common bacterial infections of the digestive tract. New-York*, 1907, p. 79.

la pénétration de l'air, ce qui permet au *bacillus Welchii* de se développer en peu de temps. Il se produit un caillot spongieux et dur de caséine d'où s'échappe un liquide presque transparent. Le bacille de *Welch* s'y trouve le plus souvent en culture pure. Seulement, pour plus de sûreté, on ensemence un peu de cette culture dans des tubes de gélose glucosée profonde,afin d'assurer l'isolement définitif.

Cette méthode, basée sur la présence des spores du *Bacillus Welchii* dans les matières fécales, réussit presque toujours avec les adultes. Les nourrissons, bien que contenant le même bacille, le plus souvent ne donnent pas de cultures dans ces conditions, ce qui s'explique par le fait que leurs matières fécales renferment de petites quantités de substances sucrées. Or, il est établi que les spores du *Bacillus Welchii* ne se développent qu'en l'absence totale de sucre.

Bien que ce microbe soit un des ferments butyriques des plus actifs (il a été classé par *Schattenfroh* et *Grasberger* comme bacille butyrique immobile), il attaque en même temps les substances albuminoïdes naturelles. Il joue donc incontestablement le rôle d'un microbe putréfactif, ainsi qu'il a été établi par *Tissier* et *Martelly* dans leur étude sur la putréfaction de la viande.

VI

POUVOIR PATHOGÈNE DES BACILLES PUTRÉFACTIFS

Le fait de la présence, dans notre tube digestif, des microbes putréfactifs appartenant à trois espèces, n'est point douteux.

Ayant à leur disposition,dans le gros intestin,des substances albuminoïdes provenant de la nourriture et des cellules desquammées ou immigrées, ils trouvent les conditions favorables pour leur action protéolytique. Ceci d'autant plus que le contenu du gros intestin ne renferme point de sucres, qui pourraient gêner la putréfaction microbienne.

Mais ici se pose une question, à savoir si les anaérobies putréfactifs sont des microbes pathogènes, capables de produire

une infection de l'organisme. Là-dessus la science possède déjà un assez grand nombre de renseignements précieux.

On pense généralement que le *Bacillus putrificus* est un microbe inoffensif, dépourvu de propriété pathogène. On peut en injecter d'assez grandes quantités à des animaux de laboratoire sans amener des troubles graves. *Herter* (*l. c.* p. 195) a vu ses cobayes bien résister à des quantités considérables de ces bacilles, introduits dans leur cavité péritonéale.

Et cependant il est probable que dans certaines conditions le bacille de *Bienstock* est capable de provoquer des maladies sérieuses. *Tavel* (1) l'a vu plusieurs fois dans des suppurations péritonéales. Plusieurs observateurs l'ont également rencontré dans l'appendicite. Ainsi Mlle *Meyer* l'a isolé dans dix-neuf cas de cette maladie. La description, munie de figures, donnée par *Tavel* d'un microbe anaérobie, isolé d'un cas d'appendicite chronique, se rapporte probablement aussi au *Bacillus putrificus* que l'auteur désigne sous le nom de bacille pseudotétanique. Il manque quelques détails importants pour se prononcer d'une façon définitive sur l'identification de ce bacille. Plus tard le bâtonnet de *Bienstock* a été signalé par *Grigoroff* (2) comme un des représentants de la flore dans l'appendicite.

Herter pense que le *Bacillus putrificus* est la cause de certains troubles intestinaux, subaigus ou chroniques, dans lesquels les matières fécales renferment une grande quantité de ce microbe (*l. c.* p. 193).

Dans nos expériences de laboratoire avec le bacille que nous avons désigné comme *Bacillus sporogenes*, les animaux se sont montrés réfractaires à l'introduction, sous la peau ou dans le péritoine, de grandes quantités de ce microbe. Un singe (*Macacus cynomolgus*), auquel nous avons donné à avaler des masses du bacille sporogène, n'a éprouvé à la suite aucun trouble.

Klein (3) attribue à ce bacille la diarrhée aiguë et bénigne qu'il a observée dans deux épidémies hospitalières. Il a vu des cobayes mourir à la suite d'injections sous-cutanées. Peut-être que les variétés isolées par lui dans les affections aiguës du tube digestif étaient plus virulentes que les microbes

(1) *Centralb. f. Bakteriol.*, 1898, vol. XXIII, p 538.
(2) *Contribution à la pathogénie de l'appendicite*, Genève, 1905, p. 70.
(3) *Central. f. Bakteriol.* 1898, vol. XXIII, p. 542.

cultivés par nous et provenant, soit du contenu intestinal normal, soit des matières fécales d'une personne atteinte de colite chronique. Peut-être cette dernière était-elle aussi occasionnée par les grandes quantités du *Bacillus sporogenes*.

Des trois anaérobies putréfactifs du tube digestif, c'est incontestablement le *Bacillus Welchii* qui a le rôle pathogène le plus marqué. On le trouve dans un grand nombre de cas de suppurations aiguës et chroniques. C'est lui qui est à juste titre considéré comme l'agent étiologique de la gangrène gazeuse. *Herter* (1) suppose qu'il est même capable de provoquer l'anémie pernicieuse, grâce aux substances hémolytiques qu'il produit. *Tissier* (2) attribue certaines diarrhées des nourrissons à l'action pathogène du *Bacillus Welchii*.

C'est dans le pus de plusieurs cas d'appendicite que *Veillon* et *Zuber* ont retrouvé ce microbe, qu'ils ont décrit sous le nom de *Bacillus perfringens*. D'après *Grigoroff* (*l. c.*) il est un des anaérobies les plus fréquents dans cette maladie. Guidé par ces faits, nous nous sommes demandés, s'il ne joue pas le rôle d'agent étiologique principal dans l'appendicite. L'étude préalable du pouvoir pathogène du *Bacillus Welchii* sur les cobayes nous a montré qu'il présente des variations extraordinaires. Retiré fraîchement du pus ou du contenu intestinal, il est rarement doué d'une propriété infectieuse notable. Le plus souvent, les cobayes résistent à des doses considérables injectées dans le péritoine. Mais le bacille se renforce facilement : il suffit de quelques passages pour lui faire acquérir une virulence extraordinaire et amener la mort des cobayes après une heure ou deux de séjour dans la cavité péritonéale. Un de nos jeunes chimpanzés a avalé des grandes quantités de *Bacillus Welchii* sans avoir éprouvé le moindre malaise.

Comme il n'y a que les singes anthropoïdes qui soient doués d'un appendice vermiforme en tout semblable à celui de l'homme, nous avons essayé, en collaboration avec MM. *Doyen* et *Gosset*, de produire l'appendicite expérimentale. Les premiers essais nous ont démontré la résistance remarquable de cet organe. Retiré de la cavité péritonéale et lésé dans un ou plusieurs endroits, l'appendice guérit avec la plus grande facilité et en très

(1) *Journal of Biological Chemistry*, 1906, vol. II, p. 1.
(2) *Annales de l'Institut Pasteur*.

peu de temps, et cela malgré le passage des microbes intestinaux dans le péritoine. Dans l'intention de renforcer la virulence de la flore intestinale, nous avons soumis un chimpanzé au régime carné pendant un mois. L'opération, faite après ce laps de temps, n'a pas causé l'appendicite.

Sur plus de quinze expériences avec des chimpanzés auxquels nous introduisions les cultures microbiennes ou le pus provenant de l'appendicite humaine, nous n'avons réussi qu'une seule fois à produire l'appendicite expérimentale après avoir inoculé dans l'appendice une culture très virulente du *Bacillus Welchii*, renforcé par des passages à travers le cobaye. Il n'en résulte pas moins que ce microbe doit être pris pour un des agents étiologiques de cette maladie.

Bien que la virulence des anaérobies protéolytiques de la flore intestinale soit un facteur très variable et inconstant, il n'est pas moins vrai que nous renfermons dans notre tube digestif des microbes capables, à un moment donné, de nous occasionner des troubles appréciables.

VII

POUVOIR TOXIQUE DES BACILLES PUTRÉFACTIFS

Une question du plus haut intérêt concernant la flore intestinale est certainement le pouvoir toxique des microbes qui la constituent. Nous avons déjà mentionné la propriété du *Bacillus Welchii* de dissoudre les globules rouges, qui résident dans la production d'une sorte de toxine hémolytique. Ce fait a été constaté par plusieurs observateurs.

Quant aux toxines proprement dites, c'est-à-dire celles qui amènent des troubles généraux et la mort des animaux, les connaissances acquises jusqu'à présent sont encore bien imparfaites. Après avoir obtenu avec des cultures du *Bacillus Welchii* une hémolysine et une leucocydine, *Kamen* (1) est arrivé à ce résultat que « le bacille de la gangrène gazeuse ne produit pas dans les cultures de toxine énergique, ou bien n'en produit que des petites quantités » (p. 712).

Nous appuyant sur le fait que la viande putréfiée renferme

1) *Centralbl. f. Bakteriologie*, 1904, vol. XXXV.

des toxines très actives et que déjà plusieurs chercheurs (tels que *Duenschmann* pour la toxine du charbon symptomatique) ont réussi à obtenir des substances toxiques en cultivant les microbes dans une macération de viande, nous avons préparé des cultures des trois anaérobies putréfactifs de la flore intestinale dans des ballons avec de la viande finement hachée et recouverte par de l'eau de conduite. Après l'ensemencement des microbes, l'air avait été retiré avec la pompe à vide et les ballons hermétiquement fermés.

Les bacilles ensemencés poussent bien dans ces conditions et donnent lieu à la production de substances toxiques, dont l'effet a été constaté par nous sur des lapins. Dans la grande majorité de nos expériences, nous avons injecté nos liquides dans la veine de l'oreille; dans quelques-uns de nos essais nous les avons introduits dans le rectum.

L'empoisonnement de nos animaux a pu être obtenu soit avec du liquide de culture filtré à travers le papier, soit avec du liquide de culture chauffé à 100°, soit avec du liquide non chauffé passé à travers la bougie *Chamberland.*

La toxicité du liquide des cultures se manifestait déjà peu de temps après le début du développement de nos anaérobies. Nous obtenions les meilleurs résultats avec des cultures de 2 à 5 jours. Plus tard, le pouvoir toxique diminuait progressivement, très probablement à la suite de la décomposition des poisons par les bacilles mêmes. Nous pensons ainsi parce qu'une fois que le liquide est débarrassé des microbes par la chaleur ou la filtration, son pouvoir toxique persiste pendant longtemps.

L'empoisonnement se manifeste d'une façon variable selon la dose du liquide toxique. Lorsqu'on injecte à des lapins jeunes ou adultes 7 à 8 c. c. par kilo de poids, la mort est le plus souvent presque instantanée. L'animal n'a que le temps de tomber; après quelques convulsions cloniques, la respiration et les mouvements du cœur s'arrêtent. Mais avec des doses moins fortes l'animal reste vivant pendant trois à quatre heures, puis meurt dans les mêmes conditions que les autres.

Avec des liquides moins toxiques, les lapins ne meurent qu'au bout de plusieurs jours; avec des doses moins grandes ils survivent pendant des mois ou même définitivement.

Dans l'intoxication aiguë, le foie, les reins et l'intestin

grêle sont fortement hypérémiés et, ainsi que le cœur, remplis de sang non coagulé.

Un fait qui ressort clairement de nos expériences, c'est la très grande variabilité du pouvoir toxique des anaérobies putréfactifs. Des trois espèces que nous avons étudiées, c'est le *Bacillus Welchii* qui s'est montré le plus actif. Mais la différence de sa toxicité avec celle des deux autres microbes n'est pas considérable. Nous avons vu le bacille de *Welch*, isolé d'un cas d'appendicite grave, être presque inoffensif à côté d'autres échantillons du même microbe, provenant de personnes bien portantes, qui amenaient la mort rapide des animaux.

Il est ressorti de quelques-unes de nos expériences que le *Bacillus Welchii* isolé de la viande pourrie était plus toxique que ceux que nous avons obtenus en les isolant des matières fécales. Mais en poursuivant ces recherches plus loin, nous avons constaté que cette règle n'était point constante.

L'efficacité des liquides toxiques par injection rectale peut être le mieux démontrée sur des petits lapins. Ceux d'entre eux qui avaient reçu une ou plusieurs doses de produits microbiens s'arrêtaient dans leur développement et quelquefois finissaient par mourir.

Il n'y a pas que les trois espèces anaérobies parmi les représentants de la flore intestinale d'homme qui soient capables de produire des poisons. Lorsqu'on ensemence dans le même milieu (viande macérée), non pas des cultures pures de microbes, mais un peu de matières fécales, on obtient en peu de temps un développement abondant de plusieurs espèces de bactéries, dont les trois bacilles anaérobies ne représentent qu'une partie. Le liquide de ces cultures mixtes, pris en totalité ou chauffé à 100° ou filtré à travers la bougie, est notablement plus toxique que celui des cultures pures. Son efficacité est aussi sujette à de grandes variations. Nous avons observé que parmi les personnes bien portantes il y en a dont les matières fécales fournissent des liquides très toxiques, tandis que d'autres ne donnent lieu qu'à la production de poisons beaucoup plus faibles.

Il est à remarquer que les liquides obtenus avec les matières fécales ensemencées dans la viande sont beaucoup plus toxiques que les liquides provenant d'une décoction de légumes, ensemencée avec les matières fécales de même provenance.

Parmi les bactéries qui poussent dans ces conditions, on rencontre toujours beaucoup de colibacilles qui, bien que n'étant pas des microbes protéolytiques proprement dits, sont néanmoins capables de produire des liquides toxiques. Les études que nous poursuivons devront nous démontrer quels autres microbes de la flore intestinale sont en état de produire des substances toxiques.

VIII

CONCLUSIONS

L'ensemble des données que nous avons réunies dans cet article montre suffisamment que notre tube digestif renferme une flore microbienne dont certains représentants sont capables d'attaquer les substances albuminoïdes naturelles en dégageant des produits fétides, c'est-à-dire capables de provoquer la putréfaction. Ces mêmes microbes peuvent en même temps constituer une source d'infection et d'empoisonnement de l'organisme par des produits toxiques.

Puisque, dans nos expériences, le pouvoir toxique des bactéries putréfactives provenant de l'homme était étudié sur des lapins, c'est-à-dire sur une espèce différente, on pourrait invoquer ce fait, contre la propriété de ces microbes, de produire une autointoxication. En prévision de cette objection, j'ai prié M. *Korentchevsky* de rechercher la toxicité des bacilles putréfactifs des lapins et des chiens sur l'organisme de ces animaux. Ses expériences, dont les résultats vont être publiés très prochainement, ont démontré que le *Bacillus Welchii* et le *Bacillus putrificus* retirés du contenu intestinal des chiens produisent des poisons agissant sur la même espèce. Le même résultat a été constaté pour le lapin et les bacilles isolés de leurs intestins. M. *Korentchevsky* a également prouvé que les poisons des anaérobies sont résorbés par la muqueuse du gros intestin.

Il faut donc bien accepter que dans les bacilles putréfactifs de notre tube digestif nous avons une source d'autointoxication, contre laquelle l'organisme doit lutter par tous les moyens dont il dispose.

On a souvent insisté sur le fait que la putréfaction intestinale

ne correspond qu'au stade de début des putréfactions qui ont lieu en dehors de l'organisme vivant. Au point de vue qui nous intéresse particulièrement, il faut signaler que c'est précisément pendant les premiers jours du développement des anaérobies putréfactifs que leurs produits sont le plus toxiques. D'un autre côté, nous devons noter que ces microbes de notre flore intestinale accusent un parallélisme remarquable avec la flore de la putréfaction proprement dite. D'après les recherches de *Tissier* et *Martelly*, les meilleures que la science possède actuellement, dans la pourriture de la viande trois espèces de bacilles anaérobies jouent le rôle principal dans l'attaque des substances albuminoïdes naturelles. Au début, c'est le *Bacillus perfringens*, auquel s'ajoute bientôt le *Bacillus bifermentans sporogenes* qui domine la scène. Plus tard, leur action est remplacée par celle du *Bacillus putrificus*. Or, le premier de ces microbes est le même *Bacillus Welchii* qui est si répandu dans notre flore intestinale et qui prend l'initiative dans la putréfaction des déchets alimentaires albuminoïdes et au début de la putréfaction cadavérique. Autant que nous pouvons juger d'après nos recherches personnelles, le *Bacillus bifermentans* n'est autre chose qu'une variété du *Bacillus sporogenes* si fréquent dans le contenu de l'intestin humain. Il reste le *Bacillus putrificus* qui, ainsi qu'il a été développé plus haut, est le même dans la flore intestinale et dans n'importe quelle substance en putréfaction.

Cette analogie entre la flore protéolytique de l'intestin et des putréfactions en général constitue un nouvel argument en faveur de l'importance des microbes putréfactifs de notre organisme.

Études sur l'ankylostomiase et le béribéri en Cochinchine.

PAR F. NOC

Médecin-major de 2e classe des Troupes coloniales.

(*Suite et fin.*)

III

PASSAGE DES SÉCRÉTIONS TOXIQUES DES ANKYLOSTOMES DANS L'ORGANISME DES INDIVIDUS ATTEINTS DE BÉRIBÉRI

On admet actuellement que certains helminthes parasites, en particulier ceux qui se nourrissent du sang des animaux, secrètent des substances toxiques pour l'organisme qui les héberge. Soupçonnée depuis longtemps, cette toxicité a d'abord été vérifiée *in vitro*: *Lœb* et *Smith*[1] montrèrent l'action empêchante de l'Ankylostome du chien sur la coagulation du sang; *Calmette* et *Breton*[2] ont observé que l'Ankylostome duodénal hémolyse les globules rouges; *Weinberg*[3], puis *Weinberg* et *Léger*[4] ont constaté que les Sclérostomiens secrètent des substances toxiques pour le sang du cheval et que ces substances passent dans le sang. *Weinberg* a formulé l'hypothèse que la sclérostomiase, l'œsophagostomiase et l'ankylostomiase sont des intoxications chroniques causées par l'introduction dans le sang des sécrétions toxiques de ces helminthes. *Luigi Preti*[5] (de Pavie) a constaté d'autre part la présence d'une hémotoxine chez l'Ankylostome duodénal.

Dès 1906, à Saïgon, j'avais obtenu des résultats semblables avec *Necator americanus* : j'avais noté non seulement que cet helminthe secrète des substances hémolysantes et actives sur la coagulation du sang de l'homme, mais encore que le sérum des individus infectés jouit de propriétés hémolytiques semblables, même après un chauffage prolongé à 58-60°.

1. LEO LŒB et SMITH, *Centralbl. f. Bakt. Parasit.*, etc., orig., 1904, p. 93-98.
2. CALMETTE et BRETON, L'ankylostomiase, Paris, 1905.
3. WEINBERG, *C. R. Soc. Biologie*, 6 juillet 1907; *Ann. de l'Inst. Pasteur*; octobre 1907; *C. R. Soc. Biologie*, 11 janv. 1908, p. 25.
4. WEINBERG et LÉGER, *C. R. Soc. Biologie*, 11 avril 1908, p. 673; *Bull. de la Soc. de Path. exotique*, t. I, n° 4, 1908.
5. LUIGI PRETI, *Münch. medizin. Woch.*, n° 9, 1908.

Considérant le béribéri comme une lente intoxication, on pouvait en effet songer à retrouver dans le sang les traces des poisons inoculés au niveau de la muqueuse intestinale ; car les lésions des nerfs, des endothéliums, du foie, de la rate et des muscles persistent même après la disparition des Ankylostomes de l'intestin.

Voici le résumé de quelques expériences sur ce sujet :

I. *Expériences sur le pouvoir hémolytique et le pouvoir coagulant ou anticoagulant des extraits de N. americanus.* — Je me suis servi pour ces expériences de vers plongés dans l'alcool absolu aussitôt après la récolte, puis desséchés soigneusement dans le vide et broyés dans la solution physiologique de NaCl à 9 p. 1000.

Expérience n° 1. — Cent exemplaires de *N. americanus* sont broyés dans un mortier en agate avec 2 c. c. de la solution à 9 p. 1000 de NaCl ajoutés goutte à goutte. Après quelques heures de séjour à la glacière, l'émulsion est centrifugée et le liquide qui surnage, opalescent, est décanté. L'extrait ainsi préparé est neutre au papier de tournesol. On prépare les melanges suivants dans de petits tubes stérilisés :

T. 1 : 1 c. c. sang oxalaté de macaque + 0 c. c. 5 sol. à 9 p. 1000 de NaCl.
2 : 1 c. c. — — + 0 c. c. 5 extrait d'Ankylostome.

T. du laboratoire : 25°. Le premier mélange reste incoagulable, le deuxième coagule en 15 et 18 heures. Des expériences concomitantes faites avec le même extrait sur les globules lavés et non lavés de Macaques ne montrent aucune propriété hémolytique pour ces globules.

Expérience n° 2. — Un extrait d'Ankylostome est préparé de la même façon avec 150 vers et 2 c. c. de la solution à 9 p. 1000 de NaCl. Le liquide est neutre au tournesol. Le sang mis en expérience provient d'un Annamite.

T. 1 : V gouttes sang oxalaté + 1 c. c. 5 sol. à 9 p. 1000 de Na Cl.
2 : V gouttes — + 1 c. c. sol Na Cl + 0 c. c. 5 extrait de *N. a.*
3 : 1 c. c. — + 1 c. c. sol Na Cl.
4 : 1 c. c. — + 1 c. c. extrait de *N. a.*

T. : 26°. Aucun des mélanges n'est coagulé 12 heures après. On ajoute à chaque tube 0 c. c. 5 d'une solution de chlorure de calcium à 0,5 0/0. Les tubes 1 et 3 coagulent en 25 minutes ; en 2 et 4, pas de coagulation 12 heures après.

On pourrait conclure de ces expériences que *N. americanus* contient une substance qui empêche la coagulation du sang de l'Homme et active celle du sang du Macaque.

Expérience n° 3. — Extrait préparé comme précédemment avec 320 *N. a.* et 3 c. c. de la solution de NaCl à 9 p. 1000, mis en présence du sang d'un Annamite, recueilli par ponction de la médiane céphalique : T. 26°.

Nos des tubes.	Sang normal.	Extrait de *N.a.*	Sol. de NaCl.	OBSERVATIONS
1	1 c. c.		1 c. c.	Coagulation en 6 minutes. Caillot adhérent. Sang veineux, resté noirâtre; le coagulum se rétracte normalement, le sérum est limpide, de couleur citrine.
2	1 c. c.	1 c. c.		Coagulation en 11 minutes. Coagulum diffluent. Le sang a pris la teinte vermillon. La rétraction du caillot est faible et s'accompagne d'une légère hémolyse. Hémolyse complète et liquéfaction des deux tiers du coagulum en 6 heures. L'addition de chlorure de calcium ne ramène pas la coagulation.
3	0 c. c. 5		1 c. c.	Coagulation en 8 minutes. Coagulum dur, rétractile. Pas d'hémolyse consécutive.
4	0 c. c. 5	1 c. c.		Coagulation en 5 minutes. Coagulum diffluent, non rétractile. Hémolyse consécutive.

Cette expérience montre mieux l'action complexe de l'extrait de *N. americanus* sur le sang normal : une dose *n* d'extrait retarde la coagulation puis provoque la décoagulation et l'hémolyse; une dose plus forte (2*n*) accélère la coagulation tout en gardant son activité décoagulante et hémolytique. On observe un mode d'action semblable avec d'autres subtances hémotoxiques (venins, extraits d'organes, etc.).

Expérience n° 4. — Extraits préparés avec 10 c. c. de la solution de NaCl et 350 Ankylostomes dont la moitié antérieure a été séparée au préalable de la moitié postérieure.

On observe à la dose de 1 c. c. d'extrait pour 0 c. c. de sang, les résultats suivants :

1° L'extrait de tête accélère la coagulation et provoque une hémolyse intense avec un échantillon de sang d'Annamite;

2° Cet extrait retarde la coagulation et provoque une légère hémolyse avec un échantillon de sang d'Européen ;

3° L'extrait de queue possède, à un degré moindre, des propriétés semblables;

4° Le chauffage pendant 1 heure à 80° ne modifie pas les propriétés coagulante, décoagulante et hémolytique de ces extraits.

1. Les mélanges de sang et d'extrait de tête conservés pendant 15 jours à l'abri des poussières ne se putréfient pas, bien que l'extrait ait été préparé à l'air libre.

Expérience n° 5. — L'extrait de *N. americanus* hémolyse les globules rouges du sang de l'homme, lavés avec la solution de NaCl à 9 p. 1000 et dilués à 1 p. 20. Cette propriété hémolytique est plus intense pour les globules additionnés de sérum frais. Le sang des individus atteints de béribéri est plus sensible à l'hémolyse que le sang des individus sains.

Ces expériences montrent que l'extrait de *N. americanus* contient une « hémotoxine » pour le sang de l'homme. L'accumulation, dans l'organisme d'individus peu résistants, des sécrétions de cet helminthe, étant susceptible de déterminer des lésions du sang, il y avait lieu de rechercher ces altérations chez les béribériques, pour les comparer à celles qu'on observe dans l'anémie ankylostomiasique.

Mes recherches ont porté principalement sur les modifications du taux de l'extrait sec du sang, sur celles de la coagulabilité, et sur les altérations des globules rouges, au niveau des endothéliums. Enfin, j'ai pu déceler dans le sérum des malades la présence d'une hémolysine thermostabile, comme celle de l'extrait de *Necator*, ainsi que de propriétés antihémolytiques chez les individus résistants.

II. *Extrait sec du sang.* — J'ai noté le poids de l'extrait sec du sang dans le béribéri, en prenant comme témoins des ankylostomés résistants et des individus atteints d'anémie, soumis exactement au même régime alimentaire. L'opération a été effectuée avec le sang de huit sujets, prélevé dans le cours de la même heure, puis desséché dans le vide et enfin chauffé à 120° jusqu'à poids constant. Mon collègue et ami *Bréaudat* a bien voulu m'apporter son précieux concours dans ces manipulations.

CAS DE BÉRIBÉRI			TÉMOINS		
Numéros.	Dignostic clinique.	Extrait sec pour 100 gr. de sang.	Numéros.	Diagnostic clinique.	Extrait sec pour 100 gr. de sang.
1	B. œdémateux....	19 gr. 864	5	Ankylostomé résistant............	20 gr.
2	B. œdémateux (anasarque).........	16 gr. 460	6	Ankylostomé résistant............	20 gr. 372
3	B. paralytique et œdémateux.....	18 gr. 840	7	Anémie ankylostomiasique........	17 gr. 829
4	B. paralyt. et œdém.	18 gr. 271	8	Ankylostomiase et diarrhée.........	19 gr. 429

Il y a donc dans le béribéri une diminution notable du poids d'extrait sec du sang.

Ces modifications de l'extrait sec étaient ici en rapport avec une formule leucocytaire d'ankylostomiase, avec abaissement du taux des éosinophiles, et des grands mononucléaires dans les cas les plus graves (N°s 2 et 7). Il y a donc sur ce point une grande ressemblance entre le béribéri et l'ankylostomiase grave.

III. — *Les modifications de la coagulabilité* du sang dans le béribéri sont toujours importantes. Elles diffèrent d'aspect suivant les régions : en certains points le sang est dissous, en d'autres il contient des coagulations fibrineuses. Ces lésions avaient frappé autrefois les cliniciens qui observaient de nombreux cas de béribéri. C'est ainsi que *Prœger*[1], *Swaving*[2], *Pereira*[3], avaient constaté, les premiers, que le sang est aqueux et fluide pendant la vie. *Mansvelt*, *Harsfeld*[4] le trouvaient d'un bleu noirâtre. *Mohnike*[5] avait noté que le sang est fluide après la mort, d'un rouge foncé, gluant et d'une odeur particulière, tandis que *Simmons*[6] signalait la présence de caillots dans le cœur droit, dans les branches de l'artère pulmonaire et dans quelques grosses veines.

J'ai observé ces variations de la coagulabilité dans 17 autopsies sur 19 pratiquées peu de temps après la mort. Quelle que soit la forme de la maladie, la production rapide de caillots noirâtres dans le cœur droit est un phénomène constant; quelquefois la coagulation est incomplète, le sang est gelée de cassis. Dans la forme paralytique, j'ai noté la prédominance des caillots fibrineux, jaunâtres et drus, insérés dans les cordages valvulaires et se prolongeant jusque dans l'artère pulmonaire. Les veines caves, les rénales, les iliaques, sont souvent bosselées, gorgées d'un sang noirâtre, tantôt coagulé, tantôt dissous. Les veines périphériques laissent écouler au contraire un sang fluide, plus pâle et qui rougit à l'air.

Le tableau suivant résume ces diverses lésions, en regard de l'état particulier de la région gastro-duodénale :

1. Præger, *Geneesk. Tijdsch. v. d. Zeemagt*, II, p. 1, 1864.
2. Swaving, Mansvelt, *Geneesk. T. v. d. Zeemagt*, 3e année, nº 1, 1864.
3. Pereira, *Gaz. med. da Bahia*, *Uniao med.*, Rio-de-Jan.. 1881.
4. Harsfeld, *Gen. T. v.*, N. I, VIII, p. 560, 1860.
5. Mohnike, *Gen. T. v.*, N. I, IX, p. 449, 1861.
6. Simmons, *Med. Rep. of the Imp. Mar. Cust. of China*, 1889.

Nos de l'autopsie.	Dates	Nationalité.	État de l'intestin.	État du sang.
		I. Béribéri a forme œdémateuse.		
1	5 mars 1906	Annamite	Gastro-duodénite	Sang du cœur noirâtre, à demi coagulé
2	12 — —	—	—	— — — incoagulable.
3	31 — —	Chinois	—	— coagulé dans le cœur droit.
4	29 avril —	Philippin	—	Caillots fibrineux citrins dans les ventricules.
5	27 juin —	Annamite	—	?
6	30 — —	—	—	Sang du cœur noirâtre, coagulé
7	16 sept. —	—	—	Sang laqué dans les veines.
8	12 avril 1907	Chinoise	—	Sang du cœur noirâtre Coagulations fibrineuses dans l'artère pulmonaire.
		II. Béribéri a forme paralytique.		
1	7 février 1906	Annamite	Duodénite	Coagulum fibrineux jaune recouvert de coagulations gelée de groseille dans le cœur droit
2	4 avril —	—	Erosions du duodénum	Sang noirâtre, incoagulable.
3	20 juin —	Chinois	Gastro-duodénite	?
4	14 août —	Annamite	Pas de lésion duodénale	Coagulations dures, fibrineuses, dans le cœur droit.
5	20 — —	—	Gastro-duodénite	Coagulum noirâtre dans le cœur droit et dans l'artère pulmonaire.
6	24 sept. —	—	Piqueté hémorrhagique	Coagulations dures, fibrineuses dans le cœur et l'artère pulmonaire.
7	22 octob. —	Chinois	Gastro-duodénite	Sang noir, incoagulable.
8	2 — 1907	Annamite	Duodénite	Coagulum citrin dans le cœur droit et l'artère pulmonaire, sang des veines fluide et incoagulable.
9	23 — —	Chinois	Gastro-duodénite	Sang incoagulable, rougit à l'air.
10	29 — —	—	Duodénite.	— —
		III. Béribéri a forme mixte.		
1	7 sept. 1907	Annamite	Teinte saumonée de l'intestin	Coagulations fibrineuses transparentes dans le cœur. Sang des veines dissous.

Il est difficile de réaliser *in vitro* des expériences qui démontrent la présence des substances anticoagulantes dans le sérum des malades. On sait en effet que l'organisme se défend contre ces substances par la production d'une plus grande quantité de fibrin-ferment et que les extraits d'organes, les venins et d'autres substances protéiques déterminent des phénomènes différents de coagulabilité ou d'incoagulabilité suivant les doses, les sujets d'expérience et la durée de leur application. Ces substances étant en faible quantité dans le sang circulant, je n'ai pu, jusqu'ici, déceler leur présence avec certitude par les expériences *in vitro*.

IV. *Altérations du sang dans les petits vaisseaux.* — J'ai montré en collaboration avec *V. Brochard* [1] que le foie et la rate des sujets morts de béribéri contiennent une quantité considérable de pigment ocre qui est le signe d'une hémolyse intense dans

1. Noc et Brochard, *Bull. Soc. Path. exot.*, 8 juillet 1908.

les capillaires de ces organes. Ce pigment est identique à celui qu'on observe dans le tube digestif de *N. americanus* et se trouve chez des béribériques indemnes de paludisme ou de toute autre affection dans laquelle la destruction globulaire détermine la formation de pigment ocre. Il constitue, dans les cas aigus de béribéri, des concrétions volumineuses dont se chargent les macrophages et parmi lesquelles on reconnaît tous les stades de destruction des globules rouges. Ces concrétions s'observent encore dans les veines de l'intestin grêle, au voisinage de l'insertion des Ankylostomes et, dans quelques cas, leur abondance est telle autour de l'intestin, qu'elles forment sur les feuillets mésentériques et sur l'épiploon des taches sidérosiques signalées autrefois dans quelques autopsies de béribéri suraigu.

Dans les vaisseaux périphériques, en particulier dans le derme des mêmes sujets, on trouve également des altérations du sang caractérisées par la transformation des hématies en granules noirâtres et en cristaux brun jaunâtre dérivés de l'hémoglobine, et semblables aux formations que *Daniels*[1] a signalées dans l'ankylostomiase à la Guyane anglaise. La présence de ces granules dans les petits vaisseaux périphériques, permet d'expliquer un certain nombre de phénomènes du début du béribéri, tels que les douleurs à la pression, les fourmillements, l'anesthésie fugace, par les troubles apportés à la circulation des nerfs qui dégénèrent ultérieurement.

V. *Pouvoir hémolytique du sérum chauffé, dans le béribéri et l'ankylostomiase simple.*

J'ai recherché si le sérum d'individus atteints de béribéri bien caractérisé, et le sérum des ankylostomés indemnes, possédaient des propriétés hémolytiques pour les globules rouges humains lavés à la solution physiologique de NaCl. Je me suis servi dans ce but de sérums frais et chauffés à 58-60° pendant 2 heures à 24 heures d'intervalle; j'ai utilisé également du liquide d'ascite et de la sérosité péricardique de béribérique chauffée à 58-60°.

1. Daniels, *British Guiana med. Annals,* 1895.

Numéros des tubes.	Globules d'H. lavés dilau. 20e.	Eau salée à 9 p. 1000 de NaCl.	0 c. c. 5 Sérum normal.	0 c. c 5 S. de porteur d'Ankylostomes	0 c. c. 5 S. de béribéri frais.	0 c. c. 5 S. de b. chauffé 58-60°.	Hémolyse 12 h. après.	OBSERVATIONS CLINIQUES
1	0 c. c. 1	1 c. c.	—				O	
2	—	0 c. c. 5	G				O	Annamite non infecté (sér. frais).
3	—	—	G (chauffé)				O	Annamite non infecté (sér. ch. + 58-60°)
4	—	—	B				O	Annamite non infecté (sér. frais).
5	—	—	B (chauffé)				O	Annamite non infecté (sér. ch. + 58-60°).
6	—	—	N				O	Européen normal.
7	—	—	E				O	Européen (dysenterie) sér. frais.
8	—	—	E (chauffé)				O	Européen (dysenterie) sér. ch. + 58-60°.
9	-	—		T			H	Anémie et ulcère annamite.
10	—	—		Nh			H	Ankylostomé (sér. frais).
11	—	—		Nh. (ch.)			O	— (sér. chauffé 58-60° 2 h.) [1].
12	—	—			M.		H	Béribéri mixte et anémie.
13	—	—			L.		H	B. paralytique sans anémie.
14	.	—			K.		H	B. paralytique en voie d'amélioration [2].
15	—	—			D.		H	B. paralytique en voie d'amélioration.
16	—	—			D. C.		H	B. paralytique (amélioré).
17	—	—			W.		H	B œdémateux (anasarque).
18	—	—				M.	H	B. — —
19	—	—				L	H	B — —
20	—	—				K.	H	B. — —
21	—	—				D.	H	B. — —
22	—	—				D. C.	H	B. — —
23	—	—				W.	H	B. — —
24	—	—				Ascite	H	Individu mort de B. paralytique.
25	—	—				Péricarde.	H	Individu mort de B. paralytique.

Il y a donc dans le sérum des individus atteints de béribéri une substance hémolysante qui résiste au chauffage prolongé, comme celle que contient l'extrait de *N. americanus*.

Toutefois, une deuxième expérience faite simultanément

1. La substance hémolysante paraît être en moindre quantité dans le sérum d'ankylostomé résistant, le chauffage prolongé à 58-60° la fait disparaître dans le cas de Nh.

2. L'hémolyse commence dans chaque tube 2 heures après le mélange à 28°. Avec le sérum de K... il y a eu un léger retard au début, mais l'hémolyse était complète en 12 heures. Il s'agit d'un cas en voie d'amélioration qui possède un taux élevé de lymphocytes.

avec l'extrait de *Necator*, et les sérums de béribérique et d'ankylostomé, chauffés cinq minutes à l'ébullition, après dilution convenable, m'a montré que la propriété hémolysante était détruite à cette température.

J'ai constaté en outre que la propriété hémolytique du sérum est beaucoup plus intense avec le sérum des membres malades qu'avec celui des membres indemnes, et qu'elle peut être considérable dans le cas de béribéri très grave, l'hémolyse apparaissant au bout de quelques minutes de contact. Ni le pouvoir hémolytique des extraits, ni celui du sérum ne sont dus à l'acidité de ces substances : l'extrait aqueux de *Necator* est neutre, et le sérum de béribérique a toujours montré une alcalinité normale au tournesol.

VI. *Pouvoir antihémolytique du sérum.*

L'hémolyse des globules rouges humains par l'extrait de *N. americanus* étant un fait bien caractérisé et constant, je me suis demandé si le sérum des individus résistant à l'intoxication ne possédait pas, vis-à-vis de cet extrait, des propriétés antihémolytiques. Je me suis servi, en vue de cette recherche, de 100 Ankylostomes desséchés après lavage à l'alcool absolu, puis broyés au mortier d'agate et émulsionnés avec 10 c. c. d'eau salée physiologique à 9 p. 1000. Après centrifugation, l'extrait opalescent obtenu était additionné du sérum de divers individus à différentes périodes de leur maladie, et au mélange on ajoutait, une heure après, les globules lavés et dilués au 1/20. (Tous ces sérums recueillis depuis plusieurs semaines avaient perdu leurs propriétés cytasiques.) Le tableau suivant indique la présence d'une quantité variable d'antihémolysine dans le sérum de certains porteurs d'ankylostomes et des béribériques en voie d'amélioration. L'extrait a été employé à la dose de $0^{cc},5$, les sérums à celle de 0 c. c. 2, les globules dilués au 1/20 à la dose de $0^{cc},5$.

Nos des tubes.	EXTRAIT	SÉRUMS (0 c. c. 2).	HÉMOLYSE 15 h. après	POUVOIR empêchant.	OBSERVATIONS CLINIQUES
1	0	Physiologique.	0		»
2	0 c. c. 5	0	Complète.		»
3	0	34	Moyenne.		Anémie ankylostomiasique.
4	0	3472	Moyenne.		Béribéri chronique (œd., fourmillements).
5	0 c. c. 5	+ 34	Complète.	0	Anémie ankylostomiasique.
6	—	+ 3472	Moyenne.	+	B. chronique.
7	—	+ 41	Complète.	0	Ankylostomiase (ulcère chronique).
8	—	+ 49	Moyenne.	+	Ankylostomiase (conjonctivite).
9	—	+ 55	Moyenne.	+	Ankylostomiase (ulcère annamite).
10	—	+ 44	Légère.	+ +	Ankylostomiase (ulcère annamite).
11	—	+ 695	Moyenne.	+	B. à forme bénigne (fourmillements).
12	—	+ 763	0	+ + +	B. à forme bénigne (fourmillements).
13	—	+ R.	Moyenne.	+ +	B. paralytique à marche chronique.
14	—	+ 3562	Complète.	0	B. paralytique à marche chronique.
15	—	+ 2968	Moyenne.	+	B. paralytique à marche chronique.
16	—	+ 3089	Complète, rapide.	0	B. grave (mort 24 h. après).
17	—	+ 761	Complète.	0	B. grave (œdème et vive dyspnée).
18	—	+ C.	Moyenne.	+	B. paralytique en voie de guérison.
19	—	+ 71	0	+ + +	B. léger en voie de guérison.

On peut admettre, d'après le tableau précédent, que :

1° Le pouvoir antihémolytique du sérum vis-à-vis de l'extrait de *N. americanus*, variable suivant les individus, est nul dans le béribéri grave comme dans l'anémie ankylostomiasique, ou

qu'il est annihilé par l'action des substances hémolysantes que renferme ce sérum ;

2° Que dans les formes chroniques ou en voie de guérison ce pouvoir antihémolytique est plus élevé.

Il était aussi intéressant de comparer, concurremment avec le pouvoir antihémolytique dans le béribéri et l'ankylostomiase, le pouvoir précipitant du sérum pour les extraits opalescents de *N. americanus.* C'est ainsi que j'ai pu constater la disparition du pouvoir précipitant dans les sérums de béribéri grave dépourvus de propriétés antihémolytiques. Au contraire, j'ai observé que le sérum de béribérique en voie d'amélioration jouissait d'un pouvoir précipitant variable, que ne manifeste jamais le sérum normal. J'ai expérimenté sur ce point avec les sérums de 24 individus. Toutefois, la délicatesse de telles expériences avec des substances dont la spécificité est toute relative, ne permettaient pas encore la conclusion définitive que le béribéri est de nature ankylostomiasique. C'est l'inoculation expérimentale qui pouvait seule conduire à cette affirmation paradoxale que les Ankylostomes jouent un rôle dans son étiologie.

IV

RECHERCHES SUR LA PRODUCTION EXPÉRIMENTALE DU BÉRIBÉRI

Toutes les tentatives faites jusqu'ici en vue de la production expérimentale du béribéri à l'aide de cultures microbiennes sont demeurées sans succès. On ne peut considérer comme béribéri les paralysies qu'on a vu apparaître chez les animaux inoculés, paralysies qui surviennent pour des causes variées chez les sujets maintenus en captivité. Le béribéri est une maladie polymorphe, dont le tableau clinique complexe (troubles de la sensibilité et de la motilité, œdèmes, état général cachectique, etc.) n'a pas été réalisé.

J'ai essayé vainement chez un grand nombre d'animaux, notamment chez le Macaque, de produire des troubles semblables par l'injection, soit sous la peau, soit dans le péritoine, les veines ou sous la dure-mère, des extraits aqueux de *N. americanus* en quantité aussi élevée que possible.

Outre que ces extraits, obtenus avec tous les tissus des vers,

ne contiennent proportionnellement qu'une faible quantité de substance active, il est facile de comprendre, en étudiant le tableau anatomo-pathologique du béribéri, que cette maladie est le résultat d'une lente intoxication et de l'accumulation progressive, dans les endothéliums et les fibres nerveuses et musculaires, d'un poison que les leucocytes ne suffisent pas à arrêter et que par suite quelques injections de ce poison ne suffiraient pas pour provoquer la maladie, *a fortiori* chez des animaux dont l'aptitude réactionnelle est différente de celle de l'homme.

Cependant, à la suite d'une injection sous la peau de deux Macaques d'extraits de *N. americanus*, j'ai obtenu un léger œdème persistant plusieurs jours. Je ne veux tirer aucune conclusion de ces deux expériences.

I. *Expérimentation avec les larves de N. americanus.* — Il y avait lieu aussi de chercher à réaliser l'infection expérimentale des animaux avec les larves de *N. americanus* soit par ingestion, soit par injection sous-cutanée de grandes quantités de ces larves, et de rechercher si, dans la suite, les symptômes du béribéri n'apparaîtraient pas.

Quatorze expériences ont été faites dans ce but sur 9 macaques, 2 chiens, 2 chats, 1 mouton. Les larves de *N. americanus* ne se sont, dans aucun cas, transformées en Ankylostomes adultes. *Stiles* et *Goldberger* [1] avaient déjà obtenu, il est vrai, l'évolution des larves de cet helminthe, jusqu'au stade préadulte, sur les muqueuses intestinale et stomacale du lapin et du chien, mais ces larves n'arrivèrent pas à transformation complète. Il semble donc, pour le moment, difficile d'acclimater chez les animaux un parasite intestinal élevé, tel que *N. americanus.*

La transmission de cet helminthe à l'homme par la voie cutanée a été réalisée pour la première fois par *Smith* [2]. Déjà auparavant, Pieri [3], expérimentant sur l'infection par la peau avec l'Ankylostome américain, avait observé des œufs dans ses selles au bout de 71 jours. Ces précédents, ainsi que la possibilité de débarrasser rapidement l'intestin des ankylostomes à l'aide du thymol, m'ont fait penser à reproduire l'ankylosto-

1. Ch.-W. Stiles and Goldberger, *Americ. Medicine*, vol. XI, n° 2, 13 janvier 1906, p. 63.
2. Smith, *Journ. of the Americ. Med. Assoc.*, 1904, 27 août.
3. Pieri, *Arch. italiennes de biologie*, vol. 37, p. 271, 1902.

miase chez l'homme, soumis à l'alimentation des pays chauds, en vue de la recherche des symptômes de béribéri.

L'intérêt majeur qui s'attache à la démonstration complète de l'origine parasitaire du béribéri et un concours de circonstances exceptionnellement favorables, m'ont permis de réaliser les expériences suivantes.

Devant traiter par le thymol un groupe de 20 prisonniers chinois et annamites, supposés porteurs de *N. americanus*, j'ai constaté que sur ces 20 individus 2 ne présentaient dans leurs selles aucun œuf d'ankylostome après plusieurs examens. Ces 2 individus, ainsi que 2 autres servant de témoins, ont consenti à se soumettre aux inoculations strictement indispensables. Voici le résumé de mes observations :

N° 1. — Ne présente pas d'œufs d'Ankylostome dans ses selles. Œufs d'*Ascaris lumbricoïdes* en petit nombre. Ingère avec un peu de lait 5 c. c. de liquide larvifère contenant de nombreuses larves enkystées de *N. americanus*. Ce liquide provenait de boues stérilisées puis ensemencées au laboratoire avec *les selles d'individus non atteints de béribéri, mais porteurs des œufs de Necator americanus.*

L'examen préalable du sang donne les résultats suivants :

Hémoglobine	95 0/0
Globules rouges	4.512.000 par m. m. c.
Globules blancs	21.000 —
Polynucléaires neutrophiles	53 0/0
Mononucléaires	42 0/0
Eosinophiles	5 0/0

Pas de microbe visible dans le sang dont la coagulation est régulière. L'habitus extérieur est normal, les fonctions digestives s'accomplissent bien, les réflexes sont normaux.

N° 2. — Ingère le même jour, avec un peu de lait, 10 c. c. du liquide larvifère, précédent filtré au préalable sur papier pour arrêter les larves d'Ankylostome. Ce liquide, examiné au microscope, ne contient plus de larves, mais a conservé sa flore de bactéries et de champignons.

N° 3. — Reçoit sur la face dorsale du pied droit pendant 30 minutes une application de boues larvifères, largement infectées de larves de *N. americanus*.

N° 4. — Reçoit sur la face dorsale du pied droit pendant 30 minutes une application sous forme de compresse humide de liquide larvifère filtré sur papier.

Les réinfections pouvant jouer un rôle important dans la genèse du béribéri, chacune de ces inoculations a été répétée 7 jours après sur les mêmes sujets. Le régime de chacun d'eux consistait en riz, poisson, légumes frais, viande de porc.

Les conditions d'hygiène étant les mêmes pour tous ces prisonniers, les premiers symptômes du béribéri ont éclaté chez le n° 1 exactement 4 semaines après l'ingestion des larves. Cette période correspond au temps généralement reconnu nécessaire pour que les larves d'Ankylostome parviennent à maturité.

Voici les principaux symptômes qu'a présenté ce malade le 28e jour après l'ingestion : Inappétence, sensation de constriction au creux épigastrique, fourmillements aux membres inférieurs, œdème au-dessus de l'appendice xyphoïde.

6e semaine : présence dans les selles des œufs de *N. americanus* en très petit nombre (1 pour plusieurs préparations). Les membres inférieurs sont paralysés, le malade ne peut marcher qu'avec l'aide d'un infirmier. Le réflexe patellaire est aboli, la sensibilité cutanée des membres inférieurs est très émoussée, les articulations du genou sont douloureuses. Il y a de l'incoordination des mouvements de la main droite et une parésie marquée des extenseurs à l'avant-bras du même côté. Les extrémités des membres sont pâles, les masses musculaires des jambes et de l'avant-bras droit très diminuées de volume. Les battements du cœur, précipités, présentent nettement le rythme pendulaire, le pouls est à 120°, mou, dépressible. L'œdème persiste au creux épigastrique, il y a de la dyspnée au moindre effort. Le malade présente en somme le tableau classique du béribéri paralytique aigu. L'examen du sang démontre une anémie modérée et une éosinophilie caractéristique :

Hémoglobine	90 0/0
Globules rouges	3.427.000 par m. m. c.
Globules blancs	21.500 —
Polynucléaires neutrophiles	36 0/0
Mononucléaires et lymphocytes	27 0/0
Eosinophiles	37 0/0

Le sang est noirâtre et se coagule lentement ; le coagulum est mou, le sérum reste limpide. Ni les colorations, ni les cultures ne permettent de déceler dans le plasma la présence de bactéries.

En raison de la forte éosinophilie et de la persistance des mononucléaires à un taux voisin de la normale, les phénomènes de béribéri n'ont pas revêtu chez ce malade la forme chronique et le traitement par le thymol (deux cures de 6 grammes chacune dans l'espace de 8 jours), a permis de constater, après l'expulsion de nombreux Ankylostomes, un retour rapide des fonctions de la motilité et de la sensibilité.

Les sujets n° 2 et n° 4 n'ont présenté dans la suite aucun symptôme de béribéri.

Le n° 3 a ressenti, dans la nuit qui a suivi chaque application de boues larvifères, de violentes démangeaisons à la face dorsale du pied et présente à ce niveau plusieurs éruptions rouges, punctiformes, surélevées. Ces éruptions disparaissent plusieurs jours après. Durant le mois qui a suivi, aucun symptôme de béribéri ne s'est déclaré. Les œufs de *N. americanus* n'ont pu être retrouvés dans les selles du malade qui a présenté des alternatives fréquentes de constipation et de diarrhée.

Il résulte de cette expérience que l'ingestion d'un liquide contenant des larves enkystées de *N. americanus* semble capable de déterminer, au bout de 4 semaines, chez un individu de la race jaune, les symptômes classiques du béribéri. Je pense néanmoins, d'après les expériences positives de *Smith* en Amérique, sur la pénétration des larves de N. *americanus* à travers la peau et d'après la fréquence des éruptions analogues au « ground-itch » chez les Annamites, que ce dernier mode de contamination doit être très fréquent en Indo-Chine, où les indigènes vont pieds nus, avec la plus grande insouciance en matière de propreté.

Il m'a paru impossible de répéter l'expérience unique que je viens de relater, en raison du danger qui peut résulter de l'apparition du béribéri chez un sujet infecté expérimentalement. La valeur de l'expérience portant surtout sur l'incubation normale de la maladie, qui a coïncidé exactement avec le temps normal d'évolution des larves d'Ankylostomes, j'ai pensé que cette expérience devait rester isolée.

II. *Pathologie comparée.* — La pathologie comparée vient fortifier cette vue que l'accumulation dans l'organisme des produits toxiques sécrétés par les Ankylostomes intervient dans la genèse du béribéri.

On sait que l'ankylostomiase des chiens présente, dans la plupart des pays tempérés et tropicaux, une allure analogue à l'anémie tropicale provoquée chez l'homme par les Ankylostomes. Le tableau habituel chez le chien est constitué par une diarrhée noire ou sanguinolente, une anémie frappante, l'essoufflement, l'amaigrissement, des troubles cutanés et oculaires (éruptions, etc.). C'est une forme de la maladie des jeunes chiens particulièrement répandue au Sénégal et dans le sud de l'Europe. *Thiroux* et *Teppaz* [1], qui l'ont observée à Saint-Louis, ont constaté, en outre des signes précédents, que l'arrière-train est plus ou moins paralysé à la dernière période.

Cette affection est extrêmement répandue sur les chiens et les chats en Cochinchine, mais il arrive fréquemment d'observer, surtout à Saïgon, la prédominance des phénomènes paralytiques dans l'ankylostomiase du chien : la maladie offre alors quelques analogies avec la rage, mais ne se termine pas par la

1. THIROUX et TEPPAZ. *C. R. Soc. Biol.*, 13 oct. 1906, p. 265.

mort. Chez les jeunes chiens atteints, on note de la paralysie du train postérieur, des œdèmes légers, un amaigrissement rapide. La diarrhée fait défaut et la maladie peut durer des semaines et des mois. Elle se rapproche beaucoup par ces caractères du béribéri de l'homme. L'intestin est rempli d'Ankylostomes qui se rattachent à l'espèce *Ank. caninum.*

J'ai vu se réaliser au laboratoire les deux formes de la maladie provoquée par la présence des Ankylostomes. Sur 4 jeunes chiens nourris par leur mère et tous rapidement infectés d'Ankylostomes par elle-même, 2 sont morts dans le cours du deuxième mois après leur naissance, cachectiques. Les deux autres, placés dans des cages séparées, ont été soumis chacun à une alimentation composée de viande et de riz pendant plusieurs mois, à partir du 5 mai 1906.

Dans le courant de juin, on constate que les deux animaux ont de la diarrhée; leurs selles noirâtres présentent de nombreux œufs d'*Ank. caninum.* Il y a sur tout le corps, disséminées, des bulles remplies de sérosité qui se recouvrent ensuite de croûtes et provoquent le grattage fréquent. Chute des poils à leur niveau. Anémie, amaigrissement. Chez les deux chiens les fonctions de motilité et de sécrétion sont normales. L'un d'eux succombe le 1er août avec toutes les lésions habituelles de l'ankylostomiase (diarrhée, anémie, marasme, etc.). Le deuxième chien résiste. Le 1er octobre, cet ankylostomiasique résistant est remis comme au début de son existence au régime du riz et du lait. Les selles se transforment rapidement et perdent leur couleur noirâtre pour devenir jaune d'or, sans odeur, et la diarrhée cesse.

Le 6 octobre le chien présente de la parésie des membres postérieurs, la démarche est engourdie et raide; le 7, chute de la mâchoire inférieure; mort le 8 octobre.

Autopsie faite 5 heures après la mort.

Pas de rigidité cadavérique. Ventre ballonné. Pas d'œdème des membres. Nombreuses plaques d'alopécie et cicatrices d'ulcérations.

Cavité abdominale: liquide d'ascite, légèrement sanguinolent.

Congestion modérée des vaisseaux mésentériques. Anses intestinales dilatées. Estomac gonflé de matières alimentaires; ni congestion, ni ulcération. Duodénum légèrement congestionné. Présence de 15 *A. caninum* dans le jejunum, entourées de sang et d'une grande quantité de mucus. Plaques

hémorrhagiques dans le jejunum. L'iléon et le gros intestin sont normaux.

Rate légèrement congestionnée. Foie volumineux, friable, à teinte marbrée. Vésicule biliaire pleine de bile verdâtre. Reins normaux. La veine cave inférieure est dilatée et bosselée. Elle est remplie d'un sang noirâtre, poisseux, incoagulable. Les veines iliaques sont remplies de sang fluide.

Cavité thoracique : cœur congestionné. Liquide dans le péricarde. Caillots cruoriques dans le cœur droit et le cœur gauche; dans la veine cave supérieure le sang est entièrement coagulé, le caillot est diffluent et noirâtre. Poumon gauche normal, avec légère congestion au sommet. Poumon droit très congestionné à la base et parsemé d'îlots d'extravasation sanguine.

Cavité rachidienne : méninges congestionnées. Liquide céphalo-rachidien épaissi et trouble à la région lombaire. Cerveau congestionné. Pas d'hématomyélie.

Les hématies sont pâles et diffluentes.

Ce chien paraît avoir succombé à des accidents rapides d'intoxication par *A. caninum*, accélérés par suite de la diminution de la ration alimentaire.

Je n'ai pu avoir en ma possession, en Cochinchine, de jeunes chiens non infestés d'Ankylostomes. Tous ces animaux sont parasités en chenil dans les premiers jours qui suivent la naissance, ou peut-être pendant la gestation. Il semble néanmoins que l'on puisse observer, chez des animaux soumis à un régime pauvre, des accidents analogues à ceux qui constituent le béribéri chez l'homme ; ces accidents paraissent relever de l'ankylostomiase.

J'ai observé également à Saïgon des paralysies survenant chez des Macaques atteints d'œsophagostomiase et qui peuvent être rattachées à une intoxication par les sécrétions des œsophagostomes. On peut donc se demander si, chez l'homme même, d'autres espèces d'Ankylostomes que *N. americanus* n'interviennent pas dans la production de certains cas de béribéri; toutefois, c'est cette dernière espèce qui paraît de beaucoup la plus répandue et la plus dangereuse à la surface du globe.

V

RECHERCHES SUR LE TRAITEMENT ET LA PROPHYLAXIE DU BÉRIBÉRI.

Au début de janvier 1906, en faisant administrer du thymol en vue de la recherche des Ankylostomes aux individus atteints

de béribéri, je constatais dans le service de mon regretté camarade *Dardenne*, à l'hôpital de Choquan, qu'à la suite de l'expulsion des parasites intestinaux, certains symptômes du béribéri s'atténuaient avec une grande rapidité. Les malades n'accusaient plus de fourmillements, l'œdème disparaissait, parfois en une nuit, les mouvements des membres inférieurs avaient plus de netteté, sans que la parésie disparût tout à fait. Huit malades ayant reçu une seule dose de 6 grammes de thymol furent rapidement mis en bon état. En mars 1906, 17 malades traités furent tous améliorés au bout de quelques jours. En présence de ces résultats encourageants, M. le Dr *Angier*, Directeur de l'hôpital de Choquan, voulut bien faire subir la cure par le thymol à tous les béribériques de cet hôpital présentant des œufs d'Ankylostomes dans leurs selles.

La méthode appliquée fut celle qui est suivie couramment en Allemagne pour le traitement de l'ankylostomiase : deux cures sucessives au thymol, précédées chacune d'un purgatif au jalap ou au calomel et accompagnées du régime lacté. Les doses de thymol primitivement employées furent de 6 grammes, répétées 2 fois dans une huitaine de jours. Ces doses, quoiqu'un peu élevées, sont bien supportées par les malades, à la condition de ne leur donner ni huile de ricin, ni alcool. J'ai constaté depuis lors que les doses de 4 grammes, avec un intervalle de repos de 4 à 5 jours entre chacune d'elles, peuvent donner des résultats satisfaisants.

Du mois d'avril au mois d'août 1906, nous avons, en collaboration avec le Dr Angier, traité 58 malades atteints des diverses formes du béribéri, les uns récemment atteints, les autres frappés à plusieurs reprises et chez lesquels les réflexes des membres inférieurs étaient définitivement abolis, les paralysies compliquées d'atrophies et de déformations : 46 malades ont guéri, 5 sont sortis avant complète guérison, 7 malades sont morts, soit une mortalité de 12 p. 100.

Depuis ces premiers essais, le Dr Angier à Choquan, le Dr Flandrin à Cholon, moi-même à Giadinh, avons poursuivi le traitement du béribéri par le thymol avec des succès variables. La mortalité par béribéri, à l'hôpital de Choquan, s'est un peu relevée à cause du grand nombre de prisonniers qu'on a soumis au traitement par le thymol, individus porteurs de lésions très

anciennes et dont plusieurs ne présentaient plus d'œufs d'Ankylostomes dans leurs selles. Chez ces derniers malades les filets nerveux et les fibres musculaires avaient déjà subi la dégénérescence, de sorte que le traitement antihelminthique ne pouvait avoir aucune efficacité.

Voici, d'après les rapports du Dr Angier, le pourcentage de la mortalité par béribéri à l'hôpital de Choquan au cours de ces dernières années, avec les traitements usuels, puis en 1906 avec le traitement par le thymol :

1900 (1)….	410 malades		135 décès.	Mortalité		32.90	p. 100
1901 (2)….	1227 —		500 —	»		40.74	—
1902…….	1124 —		325 —	»		28.91	—
1903…….	495 —		206 —	»		41.61	—
1904…….	368 —		83 —	»		22.55	—
1905…….	343 —		99 —	»		28.86	—
1906 (3)….	479 —	(thymol)	116 —	»		22.14	—

Ces résultats sont difficilement comparables avec ceux qu'on obtient en d'autres pays. On sait que suivant les régions, les années, le degré de misère générale et individuelle, la mortalité par béribéri est extrêmement variable. Il faut donc tenir compte, dans l'appréciation des résultats du traitement, de la gravité des symptômes et de l'ancienneté de la maladie. Voici quels étaient les principaux signes cliniques présentés par quelques malades parmi ceux qui ont guéri :

No 2. Béribéri paralytique. — 17 ans. Malade depuis un mois environ. Douleurs dans les membres inférieurs. Pas d'œdème. Démarche assez bonne. Appétit et sommeil conservés. Perte de la sensibilité des membres inférieurs. Absence des réflexes rotuliens.

No 3. Béribéri paralytique. — 17 ans. Malade depuis un mois et demi. Douleurs dans les mollets. Pas d'œdème. Démarche assez bonne. Appétit conservé. Céphalée continue et insomnies. Perte de la sensibilité des membres inférieurs. Absence des réflexes rotuliens.

No 7. Béribéri mixte. — 16 ans. Malade depuis une semaine. Fourmillements et douleurs dans les membres inférieurs. Léger œdème prétibial. Démarche assez bonne. Appétit et sommeil conservés. Perte des réflexes rotuliens et de la sensibilité des membres inférieurs.

No 8. Béribéri mixte. — 16 ans. Malade depuis 10 jours. Fatigue dans les membres inférieurs. Léger œdème prétibial. Démarche assez bonne.

1. Kermorgant, *Ann. hyg. et med. col.* No 2, 1902.
2. Angier, *Ann. hyg. et med. col.* No 4, 1905.
3. Angier, Rapp. off. au Lt Gouverneur de la Cochinchine, 1907.

Appétit et sommeil conservés. Perte de la sensibilité des membres inférieurs et des réflexes rotuliens.

N° 11. Béribéri paralytique. — 13 ans. Malade depuis 15 jours. Douleurs et fourmillements dans les membres inférieurs. Pas d'œdème. Démarche assez bonne. Sensibilité diminuée à la face antérieure de la jambe. Réflexes rotuliens diminués.

N° 13. Béribéri paralytique. — 25 ans. Malade depuis 17 jours. Douleurs dans les membres inférieurs. Léger œdème prétibial. Démarche assez bonne. Perte des réflexes rotuliens et de la sensibilité.

N° 14. Béribéri paralytique. — 25 ans. Malade depuis 22 jours. Léger œdème prétibial. Douleurs et fourmillements dans les membres inférieurs. Marche difficilement (steppage). Perte des réflexes rotuliens et de la sensibilité des membres inférieurs.

N° 15. Béribéri paralytique. — 18 ans. Malade depuis 11 jours. Fatigue et douleur dans les membres inférieurs. Œdème prétibial insignifiant. Marche difficilement, même avec l'aide d'un infirmier. Perte de la sensibilité à la face antérieure de la jambe et des réflexes rotuliens. (Observations du Dr *Dardenne.*)

Tous ces symptômes ont disparu en huit à quinze jours après la deuxième cure au thymol. L'âge des malades, le petit nombre de jours qui s'écoulent depuis le début, le faible degré de la parésie des membres inférieurs, paraissent donc jouer un grand rôle dans le retour des fonctions *ad integrum.*

Par contre, chez les individus dont les paralysies sont de date ancienne et compliquées d'atrophie ou de déformations, ou qui ont subi plusieurs poussées successives d'œdème et de paralysie, les lésions des nerfs et des organes (cœur, poumons, foie) sont généralement irréparables.

Les observations suivantes résument les principales lésions constatées à l'autopsie des sujets ayant succombé, malgré le traitement par le thymol.

N° II. *Béribéri œdémateux.* — Bouffissure du visage et des membres. Les extrémités inférieures, œdématiées, ont la peau plissée par endroits, l'œdème ayant rétrocédé en quelques points à la suite du traitement. Nombreuses cicatrices sur les diverses parties du corps, consécutives à des éruptions furonculeuses disséminées. A l'incision des téguments, une certaine quantité de sérosité s'écoule du tissu cellulaire.

Cavité abdominale. — Faible quantité de liquide d'ascite. Vaisseaux des l'estomac, du colon et de l'S iliaque fortement congestionnés. Adhérence des anses intestinales entre elles.

Tube digestif : l'œsophage porte, dans son tiers inférieur, des taches congestives et des ulcérations petites et superficielles, disséminées. Estomac

très dilaté et congestionné. Piqueté hémorrhagique sur toute l'étendue de la muqueuse. Sur la grande courbure, deux ulcérations, l'une du diamètre d'une lentille, l'autre d'une pièce de 50 centimes. La région pylorique est très congestionnée et porte des taches hémorrhagiques. Vascularisation intense de l'iléon. Quelques ankylostomes sont restés attachés à la muqueuse du jejunum. Le gros intestin présente des ulcérations dysentériques en voie de cicatrisation. Trichocéphales dans le cœcum.

Ganglions mésentériques hypertrophiés et granulations blanches sur le feuillet viscéral du péritoine au niveau du duodénum. Pancréas d'apparence normale. Foie volumineux, en dégénérescence graisseuse. Rate congestionnée, très friable, à capsule se déchirant facilement. Reins congestionnés.

Cavité thoracique. — Adhérences rétrosternales. Sac péricardique dilaté, *étalé* dans la cage thoracique. Environ 750 c. c. de liquide séreux, citrin, dans le péricarde, au milieu duquel baigne le cœur, *très dilaté*. De teinte très pâle, de consistance molle, l'organe présente une congestion intense de ses vaisseaux coronariens. Le cœur droit est recouvert d'une couche de tissu graisseux. A la coupe, on note la teinte feuille morte du muscle dégénéré. Caillots fibrineux, citrins dans les deux cavités ventriculaires. Pas de lésions valvulaires.

Ganglions médiastinaux entourés d'adhérences et de tissu cellulaire infiltré. Poumons congestionnés à la base. Liquide sanguinolent dans la plèvre.

Cavité crânienne non ouverte.

N° III. *Béribéri paralytique.* — Traité pour paludisme puis pour béribéri paralytique, a déjà absorbé 6 grammes de thymol qui ont provoqué l'expulsion de plusieurs *N. americanus*.

Émaciation prononcée des membres inférieurs. Présente à l'ouverture de la cavité abdominale une quantité abondante de liquide d'ascite et de nombreuses adhérences péritonéales. Estomac dilaté, lésions de gastroduodénite peu étendues, mais très nettes aux alentours du pylore. Intestin grêle congestionné, présente de petites ulcérations disséminées et recouvertes de mucus. Gros intestin épaissi, œdémateux, à lumière rétrécie (intestin squirrheux de l'entérite chronique).

Foie énorme, de teinte ardoisée, sclérosé, uni à la coupe et porte sur le bord inférieur de petits ilòts blanchâtres de cirrhose. Rate volumineuse ardoisée, sclérosée.

Cœur en dégénérescence, de teinte feuille morte à la coupe.

N° IV. *Béribéri paralytique* grave (membres supérieurs et inférieurs). Légère bouffissure du visage. Émaciation notable des mollets et des masses musculaires de l'avant-bras. Rigidité cadavérique unilatérale. Les veines cutanées laissent couler peu de sang à la coupe.

Cavité abdominale : pas de liquide d'ascite. Épiploon moucheté, couvert de taches sidérosiques de forme allongée et d'un fin pointillé noir. Le diamètre des taches varie de celui d'une pointe d'épingle à celui d'une amande. Teinte extérieure de l'intestin jaune-rougeâtre, aspect dépoli. Les

veines mésentériques ne saignent pas à la coupe. Tout le tissu cellulaire mésentérique a le même aspect moucheté que l'intestin.

Estomac dilaté. Intestin grêle de volume normal. L'estomac contient des débris alimentaires et des traînées noirâtres de sang digéré, la muqueuse est parsemée de petites ulcérations punctiformes au fond desquelles se trouve une petite extravasation de sang noirâtre. Le duodénum est congestionné et contient un liquide biliaire abondant. Muqueuse du jejunum parsemée de petites ulcérations arrondies à peine visibles à l'œil nu. Le mucus renferme à ce niveau des globules altérés et des cristaux de cholestérine. Dans le cœcum un pointillé hémorrhagique existe également qui semble occuper la place de quelques Trichocéphales disparus. Appendice normal. Còlon et rectum normaux.

Pancréas d'apparence normale. Le volume du foie est normal, mais sa teinte générale rouge jaune indique une altération profonde de la cellule hépatique. A la coupe, on voit sourdre, des canalicules dilatés, un liquide jaune rougeâtre. La vésicule est gorgée d'une bile noir verdâtre, nettement dichroïque, ses parois sont fortement vascularisées.

Vaisseaux rénaux vides de sang. Les reins présentent la teinte lavée. Les veines iliaques contiennent du sang gelée de groseille, semi-liquide où baignent des caillots fibrineux, filamenteux, n'occupant pas toute la lumière du vaisseau. Rate congestionnée. Veine cave inférieure gorgée de sang qui a la couleur et la consistance du raisiné.

Cavité thoracique : pas de liquide dans la plèvre. Quelques centimètres cubes de sérosité dans le péricarde. Cœur contracté, de couleur générale cuivrée pâle. Le cœur droit et le cœur gauche contiennent des caillots fibrineux durs et jaunâtres, moulés sur les valvules et les cordages, recouverts de cruor noirâtre. De l'oreillette droite on peut suivre le coagulum jusque dans l'artère pulmonaire. Poumons très congestionnés à la base, parsemés de volumineux îlots d'extravasion sanguine.

Les vaisseaux des membres contiennent fort peu de sang : à la section, pas d'écoulement.

Les observations qui précèdent montrent que l'action efficace du traitement par le thymol[1] est limitée aux cas de béribéri dont les lésions sont récentes et modérées. Il en résulte, de plus, ce fait important que le thymol est la pierre de touche de l'état d'un béribérique. Un individu traité avec soin par le thymol et dont les réflexes ne se rétablissent pas rapidement, doit être considéré comme incurable.

Il s'ensuit, comme conséquence, que c'est surtout dans la prophylaxie du béribéri que le thymol doit porter efficacement son action, c'est-à-dire dans le traitement de tous les individus

1. Deux cures au moins de 4 à 6 grammes de thymol sont nécessaires pour expulser avec certitude tous les ankylostomes de l'intestin grêle.

qui, susceptibles d'être acceptés dans une formation militaire, dans un service public, ou envoyés dans une école ou une prison, seront reconnus porteurs des œufs d'ankylostomes, quels que soient les symptômes présentés.

L'emploi du thymol est sans danger à la condition d'espacer suffisamment les doses actives : son emploi à titre préventif devra se généraliser aux pays chauds comme celui de la quinine pour le paludisme. A la prison de Giadinh j'ai fait administrer à quelques prisonniers fortement infectés 1 gramme de thymol, deux fois par semaine, les sujets étant à jeun et j'ai vu le taux de leurs éosinophiles se relever rapidement. On pourrait donc augmenter cette dose bi-hebdomadaire sans inconvénient, en vue de la prophylaxie.

Les larves de *N. americanus* nécessitant environ 4 semaines depuis leur pénétration cutanée ou buccale jusqu'à leur transformation en adultes, il serait facile, pendant toute la durée de la saison humide, en Cochinchine, d'avril à novembre, d'instituer un traitement au thymol par quinzaines, chez les prisonniers et les militaires indigènes. On pourrait ainsi agir plus aisément sur les parasites à l'état préadulte. On aurait en outre l'avantage d'atteindre les autres parasites intestinaux : Douves, Tœnias, Trichocéphales, Ascarides et Oxyures, etc., que le thymol permet d'expulser avec facilité.

Les autres règles de prophylaxie de l'ankylostomiase s'appliquent au béribéri. Voici les principales :

1° Veiller à la propreté rigoureuse des casernes, des prisons et, d'une façon générale, de tous les locaux où sont agglomérés les indigènes ;

2° Les latrines, en aucun cas, ne doivent se trouver dans la salle où couchent les indigènes. Elles seront tenues avec la plus grande propreté ;

3° On habituera de bonne heure l'indigène au port de chaussures pour éviter le contact des extrémités inférieures avec les boues larvifères.

Une mesure d'un autre ordre et non moins importante sera de relever l'état général des sujets. L'alimentation dans les prisons d'Indo-Chine est reconnue depuis longtemps notoirement insuffisante. Le riz et le poisson salé constituent des repas monotones et trop pauvres en albuminoïdes.

Les sujets soumis à ce régime n'enrichissent pas suffisamment leur sang en albuminoïdes et en graisse; de là, semble-t-il, une diminution de leur résistance à certains poisons. Il importe donc d'attirer sur ce point l'attention de l'assistance médicale aux indigènes : une alimentation plus *azotée* semble nécessaire pour lutter efficacement contre les sécrétions toxiques de parasites animaux, tels que les Ankylostomes.

Ces différentes règles prophylactiques trouveraient leur application immédiate dans la création, dans chaque centre indigène, de *dispensaires d'hygiène* spécialement dirigés vers la lutte contre les maladies parasitaires intestinales. La création de ces dispensaires, dont j'ai institué l'un à Giadinh, est peu coûteuse et appréciée des indigènes, parce qu'elle laisse à l'Annamite le soin de se nourrir et une certaine liberté. Une salle de consultation et un microscope en font les frais principaux. On pourrait y joindre une salle de cure comprenant 5 ou 6 lits. Les médicaments distribués consistent surtout en thymol, santonine et calomel, chlorhydrate de quinine, etc. On distribue le thymol à tous les sujets porteurs d'ulcères, d'éruptions chroniques ou anémiés chez lesquels l'examen des selles a révélé la présence des Ankylostomes. On persuade aux Annamites, par des conseils adaptés à leur manière de vivre, par la distribution de livrets d'hygiène, qu'il faut faire entrer plus d'aliments azotés dans leur nourriture, et veiller à la propreté du corps pour éviter la pénétration des larves ou des œufs de parasites intestinaux.

CONCLUSIONS

1° Le béribéri, maladie caractérisée selon la définition la plus générale, par une grande faiblesse, de l'anasarque, des épanchements séreux, des troubles de la motilité, de la circulation et des sécrétions, a été attribué à des helminthes, à des bactéries, à des hématozoaires, à des moisissures, et à une intoxication alimentaire. Aucune de ces théories n'a pu jusqu'ici donner une démonstration suffisante de son origine, ni de sa nature. *Necator americanus*, dont la fréquence remarquable chez les Asiatiques est en rapport avec l'apparition des symptômes du béribéri, semble jouer, concurremment avec la pauvreté du régime alimentaire, un rôle très important dans la genèse de cette affection;

2° *N. americanus* ne provoque habituellement, chez les Chinois et les Annamites, qu'une anémie modérée et détermine rapidement chez eux de l'œdème et des phénomènes nerveux (fourmillements, anesthésie prétibiale, parésie, etc.). Il s'ensuit que l'ankylostomiase chez les Asiatiques ne revêt pas généralement les caractères d'anémie grave que l'on observe chez les Européens à Porto-Rico ou dans l'anémie des mineurs;

3° La rapidité avec laquelle apparaissent les troubles nerveux dans l'ankylostomiase d'Indo-Chine, permet de soupçonner chez les malades une diminution considérable de la résistance vis-à-vis des sécrétions des Ankylostomes;

4° Cette diminution de la résistance semble être en rapport avec une nourriture insuffisante en matières azotées et en graisse, et avec des modifications de la formule leucocytaire semblables à celles qu'on observe dans l'ankylostomiase grave chez les Européens ;

5° L'abaissement du taux des éosinophiles et des grands mononucléaires est plus prononcé dans les formes graves du béribéri que dans les formes bénignes et dans le sang des membres malades que dans celui des membres valides ;

6° Il paraît se produire dans l'organisme des béribériques une accumulation des sécrétions toxiques des Ankylostomes qui se traduit par une diminution de l'extrait sec du sang, par des modifications importantes de la coagulabilité du sang, par la présence de pigment et de granulations sidérosiques dans les veines et les capillaires des organes, et par l'apparition dans le sérum de propriétés hémolytiques semblables à celles de l'extrait de *N. americanus* pour les globules rouges de l'homme;

7° Dans le sérum des individus résistants ou chez les malades en voie d'amélioration, on peut constater l'existence de propriétés antihémolytiques et précipitantes vis-à-vis de l'extrait de *N. americanus;*

8° L'ingestion répétée des larves de *N. americanus* provenant de boues infectées avec les matières fécales de porteurs d'Ankylostomes non béribériques est susceptible de déterminer chez un individu soumis au régime des Annamites les symptômes du béribéri (Expér. n° 1, page 35) ;

9° On peut observer, en outre, en Cochinchine, chez le jeune chien ankylostomé, des phénomènes analogues à ceux du

béribéri et qui semblent relever de l'intoxication par les Ankylostomes;

10° L'application au béribéri de la cure par le thymol permet de guérir rapidement les malades dont l'intoxication est d'origine récente et modérée. Ce traitement échoue chez les sujets porteurs de lésions anciennes de dégénérescence;

11° L'intoxication par *N. americanus*, sous diverses formes, constitue une endémie des plus graves en Extrême-Orient. Il importe d'aider les Annamites à s'en préserver par le traitement préventif de l'ankylostomiase et par l'amélioration du régime alimentaire.

Ces recherches ont été faites, en majeure partie, à l'Institut Pasteur de Saïgon. M. le Dr Yersin, directeur des instituts Pasteur d'Indo-Chine, M. le Dr Angier, directeur de l'hôpital de Choquan, M. le Dr Flandrin, médecin-chef de l'hôpital indigène de Cholon, et la Sœur supérieure de l'hôpital de Phu-My ont bien voulu mettre à ma disposition les ressources de ces établissements. Je leur adresse mes respectueux remerciements pour leur bienveillant accueil.

Au cours de ces deux années de travail, mes maîtres des Instituts Pasteur de Paris et de Lille, M. le Dr Calmette et M. Mesnil m'ont prodigué leurs conseils et leur bienveillant intérêt. Je suis heureux de leur exprimer toute ma reconnaissance.

Sur la filtration de quelques diastases protéolytiques au travers de membranes en collodion.

Par le Dr Ferdinando STRADA

DE L'UNIVERSITÉ DE PAVIE

L'étude expérimentale de la protéolyse se rattache complètement à celle de la matière à l'état colloïdal.

La notion de *colloïdes* avait été basée par Graham sur la difficulté avec laquelle ces matières traversent les membranes perméables, et peuvent ainsi être séparées des autres corps dits *cristalloïdes*.

On a donc souvent expérimenté sur les phénomènes de la dialyse chez les colloïdes en général, et chez les albuminoïdes en particulier. On a cherché aussi à séparer, par ce moyen, les agents diastasiques et à reconnaître quelques-unes de leurs propriétés. Les résultats obtenus ont été contradictoires.

Dans ces derniers temps une technique nouvelle a été employée, je veux dire la filtration au travers des membranes en collodion. Borrel et Manea[1] ont été les premiers à se servir des sacs en collodion, déjà bien connus des bactériologistes, pour filtrer des milieux de culture contenant des toxines.

C'est Malfitano[2] qui a montré aussitôt le grand profit que l'on pouvait en tirer dans l'étude des colloïdes. De ses premières recherches, auxquelles j'ai collaboré en partie, je vais relever les données techniques essentielles et les principaux faits expérimentaux qui sont en rapport avec mes expériences.

On prépare un sac en collodion en suivant la manipulation imaginée par Roux, depuis longtemps adoptée par les bactériologistes. On a soin de maintenir le sac constamment humide, on l'attache au moyen d'une ligature bien étanche au bout d'un manchon en verre, on introduit l'extrémité qui porte le sac à l'intérieur d'un flacon à large goulot, auquel on assujettit le

1. Manea, *C. R. Soc. de Biologie*, 29 août 1904.
2. Malfitano, *C. R. Acad. des Sciences*, 26 décembre 1904.

manchon au moyen d'un bourrelet d'ouate. L'appareil ainsi monté peut être stérilisé à 105° pendant 30', On doit toutefois avoir soin que le sac soit plein d'eau, et que la température ne monte pas plus haut, faute de ces précautions, la membrane se contracte et perd sa perméabilité.

Après avoir vidé l'appareil et l'avoir rincé avec une portion de la liqueur que l'on veut étudier, on le remplit ; en exerçant alors une faible pression pneumatique à l'intérieur du tube, le sac va fonctionner comme un filtre; l'on voit d'abord des gouttelettes perler à la surface extérieure, puis se réunir et couler dans le flacon.

Les solutions parfaitement limpides : de sels à n'importe quelle concentration, d'acides et de bases, suffisamment diluées pour qu'elles n'attaquent pas le collodion, et toutes les solutions comme celles de saccharose, par exemple, traversent ces membranes sans avoir subi aucune modification appréciable. Ce sont les *vraies solutions*, comme l'on dit, les *solutions parfaites*. Les matières dissoutes s'y trouvent divisées en particules extrêmement petites, qui n'arrêtent pas la lumière à son passage. Par contre, les *solutions colloïdales* ou *fausses solutions*, celles qui tout en étant homogènes sont opalescentes, même à un degré très faible, doivent contenir des particules assez volumineuses qui diffractent la lumière, telles les grains de poussières dans le parcours d'un rayon de lumière (phénomène de Tyndall). Ces liqueurs en traversant la membrane y abandonnent une portion des matières qu'elles contiennent.

Le liquide filtré au travers du collodion est toujours parfaitement transparent, le phénomène de Tyndall ne s'y manifeste plus. Ce sont donc les particules dont les dimensions sont assez considérables et qui peuvent diffracter la lumière que la membrane retient,

Soit une solution de blanc d'œuf suffisamment diluée (1 à 4 0/0 de matière sèche) et chauffée à 100° ; c'est une liqueur fortement opalescente; lorsqu'on l'acidifie légèrement et qu'on la chauffe, l'albumine coagule ; de plus, cette liqueur contient des sels minéraux.

En filtrant cette solution, on obtient un liquide parfaitement limpide, qui contient beaucoup moins d'albumine coagulable,

mais en contient encore un peu, la plus grande partie des sels minéraux s'y trouvent, mais pas tous.

Ici la question se pose : l'albumine capable de traverser la membrane est-elle différente de celle qui a été retenue?

Or, nous voyons que le liquide filtré, si on le dilue ou si on le dialyse, quelquefois spontanément, toujours lorsqu'on y ajoute une quantité appropriée d'acides ou de sels, devient à son tour opalescent et dans une filtration ultérieure abandonne une nouvelle portion de matière sur la membrane.

Malfitano[1] a montré que lorsqu'on filtre une solution colloïdale, la proportion de matières retenues par la membrane est variable selon la concentration, la réaction et la présence de certains sels. Avec l'aide de l'ultramicroscope, Cotton et Mouton[2] ont pu, du reste, constater que la liqueur colloïdale contient des particules dont les dimensions sont différentes à un moment donné, et ces dimensions peuvent, avec le temps et le changement de température et de concentration, être facilement modifiées.

Il faut alors conclure que l'albumine qui traverse la membrane ne diffère de celle qui est retenue que par les dimensions de ces particules.

Ce qu'il importe d'établir, ce n'est pas la grandeur de ces particules, mais leur nature ainsi que la raison de leur variabilité.

La technique de la filtration au travers du collodion a permis d'apporter quelques éclaircissements à ce problème.

La matière qui fait défaut dans le liquide filtré peut avoir été fixée par le collodion; en effet, on peut remarquer que le liquide qui reste dans le sac n'est pas plus concentré. Mais les quantités de matières ainsi soustraites ne peuvent être que très faibles, et si l'on prolonge la filtration, on voit que ces matières, capables d'imprégner le collodion, sont constituées de particules très petites qui finissent toujours par passer au travers.

Dans d'autres cas, lorsqu'il s'agit de particules suffisamment grosses, dès le début de la filtration, la matière se concentre à l'intérieur du sac, et lorsqu'on a filtré une quantité suffisante, on obtient un résidu.

1. *C. R. Acad. des Sciences*, CXLI, pages 660 et 680.
2. *Les objets ultramicroscopiques*, Paris, Masson, 1907.

Dans tous les cas, on peut reconnaître la quantité et la composition de la matière retenue, en analysant comparativement la liqueur totale et le filtrat.

Dans le cas des matières protéiques, en général, la matière retenue contient des corps organiques caractéristiques et des sels minéraux, des phosphates alcalino-terreux le plus souvent. Si l'on reprend ce résidu avec de l'eau distillée, que l'on mélange bien et que l'on recommence à filtrer, l'on voit, en répétant l'opération à plusieurs reprises, que les matières protéiques disparaissent bientôt dans le filtrat et celui-ci ne contient que des quantités de plus en plus faibles, mais jamais négligeables d'éléments minéraux.

La teneur en matières minérales du résidu de la filtration diminue donc pendant ces lavages, et ceci est remarquable : en même temps l'albumine devient de moins en moins divisible, c'est-à-dire qu'elle tend à former des flocons de plus en plus gros, qui se déposent rapidement. C'est en traitant le résidu de la filtration avec des solutions d'acides ou d'alcalis qu'on le remet en suspension. Avec une quantité suffisante d'acide chlorhydrique ou de soude caustique, on peut de nouveau obtenir des liqueurs claires qui peuvent, lorsqu'on les filtre, laisser passer de nouveau dans le filtrat de l'albumine coagulable.

Nous sommes donc en présence d'une matière qui, prise isolément, est insoluble et qui, en présence d'éléments minéraux, se divise en particules dont les dimensions sont variables selon la nature et la teneur de ces éléments minéraux.

Il est facile de démontrer que les éléments minéraux, existant toujours dans une solution d'albumine, sont en partie libres dans le liquide et en partie associés avec la matière organique pour former des particules plus ou moins volumineuses que l'on appelle *micelles*.

Lorsqu'on change la composition du milieu, dit intermicellaire, soit qu'on dilue, soit qu'on dialyse, ou qu'on lave le résidu de la filtration, ou que l'on ajoute des acides, des bases ou des sels, la composition des micelles change en même temps que leurs dimensions et leurs propriétés. Les micelles se groupent en paquets plus volumineux ou se disloquent en plus petits.

On a proposé d'admettre que la matière albuminoïde est amphotère, c'est-à-dire que tour à tour elle joue soit le rôle d'acide et se combine avec des bases, soit celui de base et se combine avec des acides. Mais les analyses des précipités ou des résidus de la filtration montrent que les albumines ne contiennent pas seulemeut des radicaux basiques ou des radicaux acides, mais les uns et les autres à la fois, ce sont des sels des phosphates alcalino-terreux qu'on y trouve le plus souvent[1].

Du reste, que les albumines soient des acides ou des bases, cela n'explique pas pourquoi elles formeraient des particules qui se groupent ensemble et se disloquent si facilement lorsqu'on change le degré de réaction, ou lorsqu'on y ajoute des sels neutres.

Selon la théorie de Perrin[2], les albuminoïdes seraient constitués par des granules sur la surface desquels viendraient se fixer des éléments minéraux. Ce seraient les atomes d'hydrogène doués d'une charge électrique positive dits ions H, que les acides mettent en liberté dans les solutions, ou les groupes O H ayant une charge négative, les ions O H, mis en liberté par les bases, qui joueraient ce rôle. Les granules d'albumine seraient ainsi des masses électrisées qui, se repoussant les unes les autres, resteraient divisées dans les liquides. Lorsqu'on ramène la liqueur à la réaction neutre, le nombre des ions est réduit au minimum et les granules devraient floculer et, au contraire, se fragmenter de plus en plus lorsqu'on augmente l'acidité ou l'alcalinité du milieu.

Mais pourquoi l'albumine coagule-t-elle par le chauffage, la réaction étant faiblement acide? Comment expliquer la coagulation par excès d'acide? Et pourquoi le coagulum contiendrait-il toujours des phosphates alcalino-terreux?

Jacques Duclaux[3] a considéré les colloïdes comme des matières absolument insolubles, qui forment des systèmes solides, des assemblages fragiles de granules juxtaposés en quelque sorte des réseaux, comme des éponges où dans leurs mailles circule le liquide intergranulaire. Cet auteur a montré qu'entre les matières dissoutes dans le liquide et les colloïdes

1. Malfitano, *Acad. des Sciences*, t. CXLI, p. 212.

2. Perrin, *Journ. de Chimie physique*, t. III, p. 50, 1905.

3. Jacques Duclaux, *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1904. Revue du mois. Mars 1908.

ont lieu des échanges continuels, et que la composition du colloïde varie d'une manière continue. Il a conclu que les colloïdes sont de véritables composés chimiques auxquels cependant ne s'appliquerait pas la loi des proportions définies ni, *a fortiori*, la loi des proportions multiples.

Par la filtration au travers du collodion, Malfitano a pu séparer, dans une même liqueur, des micelles de dimensions différentes et il a montré que leur composition est aussi différente.

La matière colloïdale n'est donc pas un composé unique, mais un mélange de composés homologues. Les recherches poursuivies dans son laboratoire ont été guidées par une conception qu'il a exposée en 1904 et qui consiste à considérer les colloïdes comme des composés d'addition, des composés doubles formés d'une matière insoluble associée avec une autre matière et celle-ci non seulement soluble, mais dissociable en radicaux électriquement chargés, les ions [1].

Tous les colloïdes peuvent être représentés, selon lui, par une formule schématique (MnA)B. Dans cette formule, M indique la matière insoluble ; *n* le nombre de molécules de cette matière insoluble ; A indique le radical ou ion associé intimement avec la matière insoluble et qui constitue avec celle-ci un groupe (MnA) se déplaçant en entier dans les réactions, ce que l'on appelle l'ion complexe ; B indique l'ion, ou les ions qui ensemble avec A constituent la molécule soluble et dissociable. Un exemple fera mieux comprendre cette conception [2] :

Le sulfure mercurique (HgS) est une matière noire insoluble dans l'eau et qui se dissout abondamment dans les solutions concentrées de sulfure de potassium (K_2S). Au sein de cette liqueur contenant les deux sels, on voit apparaître des cristaux rouges dont la composition est celle exprimée par la formule $HgS\,K_2S$. Si l'on dilue cette liqueur, ou si on la chauffe, il se forme des cristaux jaunes de la composition $(HgS)_5\,K_2S$; si la dilution et le chauffage sont poussés plus loin, la liqueur devient de plus en plus opalescente, puis des particules visibles apparaissent, celles-ci grossissent et se déposent. Le précipité est, lui aussi, composé de HgS qui contient

1. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CXXXIX, p. 920.
2. Malfitano, *Revue générale des Sciences*, août 1908.

une quantité variable de K_2S, que les lavages n'enlèvent que difficilement et jamais complètement. Malfitano pense qu'il n'y a aucune raison d'admettre que les particules des composés cristallisables et celles des corps ayant les caractères de colloïdes soient constituées différemment. Il est vraisemblable que selon la proportion respective des deux sels, se forme une série de composés doubles homologues, dont la composition peut être exprimée par la formule générale $(HgS)n\ K_2S$ ou $[(HgS)n\ S]\ K^2$. Lorsque la valeur de n est faible, égale par exemple à 1 ou 5, l'on a affaire à des composés ordinaires cristallisables, lorsque la valeur de n devient de plus en plus grande, ce sont les micelles qui, par leur masse considérable, donnent lieu aux propriétés optiques, osmotiques et électriques, qui caractérisent les colloïdes. Ces liqueurs de sulfure mercuro-potassique, qu'elles soient limpides ou opalescentes, ou même troubles, contiennent toujours les mêmes paquets plus ou moins volumineux de molécules de sulfure mercurique associées avec un ion soufre S, et c'est grâce à cet ion, qui leur communique une charge électrique, que tout le paquet, l'ion complexe peut rester isolé; faut-il toutefois que le nombre de molécules ne soit pas trop grand et partant que le paquet ne soit pas trop lourd et peu mobile, car alors plusieurs paquets s'unissent ensemble et sédimentent. Ces ions complexes sont accompagnés constamment, non seulement des ions de potassium K, mais encore d'une certaine quantité de sulfure potassique libre.

Lorsque la quantité de sulfure potassique libre diminue, comme cela a lieu en diluant, ou lorsque cette quantité devient insuffisante, comme cela a lieu par le chauffage, les composés doubles se décomposent pour mettre en liberté une nouvelle portion de sulfure de potassium, alors les paquets de molécules insolubles deviennent moins nombreux et de plus en plus gros; la charge électrique devient alors insuffisante à tenir séparés les uns des autres ces paquets devenus trop lourds et la coagulation a lieu.

Le mécanisme de la coagulation consiste toujours dans une diminution des ions S, de ceux qui animent les paquets, lorsque les ions de signe contraire qui accompagnent cet ion S se réunissent avec lui, la charge disparaît. C'est ce qui se vérifie

lorsqu'on acidifie la liqueur, ou qu'on l'additionne de quantités massives de sels neutres ou de sels à radicaux positifs polyvalents, tels le baryum ou le fer, par exemple. Dans tous ces cas, au lieu de sulfure de potassium dissociable en ions, la micelle contient ou de l'acide sulfhydrique ou le sulfure alcalin non dissociés, ou les sulfures de baryum et de fer peu dissociables ou même insolubles. Naturellement la quantité de ces derniers sels, qu'il faut ajouter pour obtenir la coagulation, diminue avec la valeur du radical positif et avec la pauvreté de la liqueur colloïdale en sulfure de potassium.

Nous pouvons chercher à appliquer ces vues théoriques à l'étude des colloïdes biologiques, tels l'amidon et l'albumine. Malfitano a émis l'hypothèse [1] que l'amidon est constitué par une matière insoluble ($C_6H_{10}O_5$), produit de condensation du maltose, associée avec des radicaux phosphoriques $PO_4 \equiv$ elle formerait des ions complexes $[(C_6H_{10}O_5)nPO_4] \equiv$ négatifs compensés par H, Na, K, Ca, Mg, selon la composition du milieu. Les différentes matières amylacées ne seraient en somme que des acides phosphoriques complexes ou des phosphates complexes alcalins ou alcalino-terreux et formant des micelles plus ou moins volumineuses et plus ou moins capables de rester séparées les unes des autres.

Les unités physiques des matières protéiques [2], c'est-à-dire les plus petites particules de ces corps pouvant exister isolées dans les solutions, ne peuvent pas être considérées comme des molécules, si volumineuses qu'on puisse les imaginer; ce sont des micelles, c'est-à-dire des agrégats de molécules insolubles avec des molécules d'acides ou de sels ou de bases. Rien ne s'oppose à considérer l'albumine comme un composé d'addition formé des molécules d'amides insolubles (les polypeptides de Fischer?) avec des phosphates ou d'autres sels minéraux ou organiques.

Les solutions d'albumine contiennent des masses plus ou moins volumineuses, formées d'un nombre variable de molécules organiques associées avec des ions, qui leur confèrent leur signe électrique, elles sont accompagnées des ions de signe contraire; en même temps, dans le milieu se trouvent des sels

1. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CXLIII, p. 400.
2. MALFITANO, *C. R. Acad. des Sciences*, t. CXLI, p. 503.

ou des bases ou des acides libres. En faisant varier la nature ou la quantité de ces électrolytes libres, on amène des changements dans la nature ou l'état de dissociation des électrolytes qui sont intimement liés à la matière organique dans les micelles et, par conséquent, l'état de division et de solubilité de celles-ci change aussi.

Les processus de la digestion, soit dans le cas des matières protéiques, soit dans celui des matières amylacées, ont été envisagés jusqu'ici comme des phénomènes d'hydrolyse. Les grosses molécules de ces matières se dédoubleraient progressivement en molécules plus petites, en fixant les éléments de l'eau ; c'est l'action diastasique la mieux connue, celle de l'inversion du saccharose, qui a servi de modèle.

S'il en était ainsi, il aurait fallu démontrer que lorsque l'albumine coagulable se transforme en peptones, l'amidon en dextrines, le poids de la matière à l'état sec augmente, et cela n'a jamais pu être expérimentalement vérifié. Par contre, il est possible de constater que, pendant la peptonisation et la dextrinisation, des changements saisissables ont lieu dans les rapports qui existent entre la matière organique et les matières minérales. Les proportions et la nature des électrolytes associés avec la matière organique ne sont pas les mêmes au début et à la fin de la digestion.

Il est certain qu'en même temps des molécules organiques doivent subir l'hydrolyse, mais ce n'est qu'en deuxième lieu, lorsque l'état de division de ces matières est assez avancé.

E. Duclaux avait prévu que l'étude des diastases devait être dirigée vers la recherche du rôle et de la nature des liaisons entre les matières organiques et les substances minérales. C'est dans cet esprit que nous avons poursuivi, Malfitano et moi, nos recherches sur la protéase charbonneuse, et nous avons trouvé que lorsqu'on filtre les liquides de macération des bactéridies charbonneuses, le pouvoir diastasique n'apparaît pas dans le liquide filtré dans lequel une certaine quantité de matières organiques et de phosphates alcalino-terreux font défaut. J'ai ensuite continué ces recherches sur le suc gastrique, sur des liquides contenant la kinase, et sur le suc pancréatique.

I

FILTRATION DU SUC GASTRIQUE

Je me suis servi, dans ces expériences, de suc gastrique très pur, provenant de chiens dont l'estomac était totalement séquestré et que M. Frouin avait aimablement mis à ma disposition. Lorsqu'on filtre ce suc remarquablement actif au travers de sacs en collodion, sous une pression équivalente à 2 mètres d'eau, on obtient un liquide complètement dépourvu d'activité pepsique.

a) Liquéfaction de la gélatine. — Le mélange de 0,2 c. c. de suc primitif avec 5 c. c. de gélatine à 20 0/0, acide au tournesol ayant été maintenu 3 heures à 40°, reste ensuite définitivement liquide lorsqu'on le refroidit à 15°. Le mélange, par contre, en tout comparable avec du suc filtré, même après être resté 15 jours à 40°, se solidifie encore lorsqu'on le refroidit.

b) Dissolution du blanc d'œuf coagulé en tubes de Mett. — On sait que cette méthode d'appréciation du pouvoir diastasique consiste à remplir un tube en verre d'un millimètre de diamètre environ, en aspirant l'albumine à même l'œuf frais. Ensuite, après avoir scellé les deux bouts du tube, on le plonge dans l'eau chaude à 80-90°. L'albumine coagule alors à l'intérieur et l'on peut couper avec la lime des segments de ce tube que l'on introduit dans le suc que l'on veut essayer. Le suc gastrique primitif avait dissout, au bout de 48 heures à 40°, le cylindre d'albumine d'une longueur de 7 millimètres. Le suc filtré n'en avait même pas dissous 1 millimètre.

Comment la composition du liquide est-elle changée après filtration ?

J'ai constaté tout d'abord que l'acide chlorhydrique était passé intégralement dans le filtrat.

100 c. c. de ce suc sont amenés à la neutralité au tournesol par 92 c. c. de soude décinormale. Il fallait la même quantité à 0, 1 c. c. près pour neutraliser le suc filtré.

J'ai mesuré la conductibilité électrique ; elle est un peu plus

élevée dans le liquide filtré. On connaît la sensibilité de ce moyen de mesure et l'on peut dire que, sûrement, tous les électrolytes (acides sels et bases dissociables en ions) se retrouvent dans le liquide filtré. J'ai même voulu essayer ces liqueurs par la méthode électrométrique dite des piles à concentration; je reviendrai plus loin sur cette question; je me bornerai pour le moment à dire que les déterminations que j'ai exécutées au laboratoire de Physiologie de la Faculté des Sciences, guidé par Ambard, n'ont montré aucune différence appréciable entre le liquide primitif et le liquide filtré.

La membrane retient cependant une partie des matières dissoutes, car le contenu du sac devient plus épais à mesure que la filtration se poursuit.

Mes analyses ont été faites comparativement sur 500 c. c. de suc primitif et autant de suc filtré.

Après avoir desséché ces sucs jusqu'à poids constant et avoir ainsi évalué les matières fixes, j'ai calciné le résidu à feu ménagé, au moufle, et j'ai pesé les cendres. J'ai séparé la partie soluble de cendres et pesé la partie insoluble, après quoi le tout réuni servait à doser séparément la chaux et l'acide phosphorique.

	DANS 1 LITRE DE :	
	Suc primitif.	Suc filtré.
	Grammes.	Grammes
Matières fixes à 105-110°	1,366	1,252
Cendres totales	0,330	0,330
— insolubles	0,060	0,058
Acide phosphorique	0,0123	0,0122
Chaux (oxyde)	0,0240	0,0240

Dans un autre essai, j'ai desséché les liquides, neutralisés au préalable avec de l'eau de chaux, pour doser ensuite le chlore dans les cendres. J'ai trouvé :

	DANS 100 C.C. DE :	
	Suc primitif.	Suc filtré.
	Grammes.	Grammes.
Chlore	0,450	0,453

L'on voit ainsi que la disparition du pouvoir pepsique correspond au manque, dans le liquide filtré, de 1 décigramme environ de matière par litre. Il est évident que cette matière

n'est pas entièrement de la pepsine; des matières inactives doivent l'accompagner, les mèmes qui en partie se retrouvent dans le liquide filtré. Il suffit, en effet, de changer tant soit peu la réaction du suc pour que la quantité de matière arrêtée par la membrane varie ; lorsque le suc a été neutralisé avant la filtration, la quantité de matière retenue par le filtre est environ 3 fois plus forte.

L'on met à filtrer du suc gastrique neutralisé exactement avec de la soude caustique : 100 c. c. de ce suc laissaient un résidu de 1gr,012 et le même volume du liquide filtré 0gr,966 ; la quantité retenue était de 0gr,046, ce qui fait 4 décigrammes par litre de matière, au lieu de 1 décigramme Ce ne peut cependant être le chlorure de sodium formé en neutralisant, qui serait retenu par la membrane.

L'on peut se rendre compte, par cela, comme l'on est encore loin d'avoir réalisé la préparation d'une diastase pure.

Du fait que la matière douée de ce pouvoir diastasique est formée de particules que la membrane arrête au passage, peut-on conclure qu'elle est de nature colloïdale ? Ce que nous pouvons affirmer, c'est qu'elle subit le même sort que les micelles colloïdales.

La teneur en matière minérale ne change pas sensiblement par la filtration; mais, étant donnée la quantité trop faible du résidu, l'on ne saurait conclure si la matière retenue est exclusivement organique ou si elle contient des cendres.

Les résultats que je viens d'exposer permettent de tirer quelques arguments qui se rapportent à la question tant débattue, à savoir si l'acide chlorhydrique est à l'état libre dans le suc gastrique ou s'il est en partie combiné avec la pepsine.

Mme Schoumoff Simanowski ayant évaporé à 20 degrés du suc gastrique de chien, recueilli par la méthode de la double fistule gastro-œsophagienne, a montré que la plus grande partie de l'acide chlorhydrique était ainsi éliminée; il devait donc être à l'état libre, mais elle a trouvé que le résidu avait encore une faible réaction acide : une petite portion d'acide restait donc, il devait être associé à la pepsine.

D'autre part, elle avait cru avoir réalisé la préparation de la pepsine pure, et cela en refroidissant le suc gastrique et en recueillant quelques légers flocons de matières protéiques con-

tenant du chlore qui, dissous dans l'eau acidulée, se comportent comme la pepsine.

Frouin[1], qui a réalisé sur des chiens la ségrégation totale de l'estomac, et qui a pu ainsi obtenir un suc beaucoup plus pur, a montré que l'acide chlorhydrique s'élimine complètement par évaporation à basse température; l'acidité résiduaire devait tenir, selon lui, à ce que l'on avait analysé des sucs souillés de salive ou de mucus, qui pouvaient contenir de l'acide phosphorique ou de l'acide lactique.

Carvallo, dans le *Dictionnaire de Physiologie* de Richet, a objecté à Frouin que son opinion est trop absolue ; du fait que les sucs gastriques contiennent toujours des matières albuminoïdes, on ne peut conclure qu'une partie de l'acide chlorhydrique ne puisse contracter avec ces matières une liaison labile, qui se détruirait pendant l'évaporation.

Il y avait un moyen d'étudier l'état de l'acide chlorhydrique dans les sucs sans rien changer à son état. C'était de suivre l'inversion du saccharose, comparativement dans un suc gastrique et dans une solution d'acide chlorhydrique exactement au même titre. L'on a trouvé que l'acide chlorhydrique du suc était moins actif et que, par conséquent, il ne devait pas être tout entier libre.

Mais la présence de matières albuminoïdes pourrait entraver l'inversion du saccharose par un mécanisme quelconque et tout autre que celui de la fixation de l'acide.

De plus, cette comparaison portait-elle vraiment sur deux liqueurs contenant exactement la même quantité d'acide chlorhydrique? La détermination du titre acide d'une liqueur comme le suc gastrique, au moyen d'indicateurs colorés, ne peut pas être suffisamment exacte dans ce cas. En effet, le virage du tournesol, de la phénolphtaléine, du rouge Congo, du méthylorange, ne se fait pas au même moment dans ces liquides albumineux, et l'écart entre les virages varie avec la quantité de matières étrangères qu'ils contiennent.

Les résultats fournis par ces titrages indiquent la teneur en acide (acidité potentielle), et non pas la quantité active de cet acide (acidité actuelle). L'on admet que la réaction acide est le

1. Frouin, *C. R. Soc. de Biologie*, 1899, p. 374.

fait de l'existence, dans un liquide d'ions H^+ et la réaction alcaline, le fait de la présence d'ions OH^-; et plus précisément, une liqueur est acide ou basique lorsque le nombre d'ions d'un signe est plus grand que ceux du signe contraire; et lorsque ces ions sont en nombre égal, la réaction est neutre. C'est le cas de l'eau qui, étant en petite quantité dissociée en ses ions, ne peut donner qu'autant d'ions H que d'ions OH.

Le nombre d'ions H libres constitue donc l'acidité actuelle, que l'on peut apprécier directement en mesuraut la vitesse d'inversion du saccharose; cette hydrolyse est due, en effet, exclusivement à l'action des ions H. On mesure aussi l'acidité actuelle par la méthode électrométrique dite des piles à concentration, qui consiste à mesurer comparativement le potentiel électrique de deux électrodes appropriées; l'une plongé dans une solution connue d'acide et l'autre dans la solution à étudier, les deux liquides étant en communication.

Foa et Ambard[1] ont appliqué cette méthode pour établir quel est l'état de l'acide chlorhydrique dans le suc gastrique, en se servant de suc de Frouin, de la même provenance que celui que j'ai employé. Ils ont conclu que la presque totalité de l'acide doit être libre, la pepsine ne doit pouvoir en retenir qu'une quantité minime

Le résultat que j'ai obtenu me paraît bien plus concluant : nous voyons que l'on peut éliminer complètement d'un suc gastrique le pouvoir pepsique sans que les dosages (dosage de chlore, titrimétrie, électrométrie) accusent une diminution sensible dans la quantité de l'acide chlorhydrique présent.

Je me suis encore demandé si la matière active qui ne traverse pas la membrane se trouvait concentrée à l'intérieur du sac.

Lorsqu'on filtre du suc très pur, bien limpide, la teneur en extrait sec du contenu du filtre n'augmente guère au début, ni son pouvoir pepsique. La matière active est donc fixée sur le collodion; on peut d'ailleurs l'extraire, en mettant le sac coupé en morceaux à macérer dans les solutions d'acides, on retire un liquide plus ou moins actif.

Lorsqu'on a filtré sur le même sac une grande quantité de suc gastrique, 1/2 litre par exemple, comme j'ai eu l'occasion

1. Foá et Ambard, *C. R. Soc. de Biol.* II, 1905.

de le faire, le liquide devient plus épais à l'intérieur, il forme un dépôt ayant l'aspect de mucus; lorsqu'on reprend ce résidu avec de l'eau acidulée et que l'on y plonge un cube coupé dans du blanc d'œuf bouilli, l'on voit que la digestion se fait lentement et qu'elle n'est jamais complète : il reste un résidu floconneux qui ne disparaît pas, même après un temps très long. Ce qui s'accumule dans le filtre n'est donc pas de la pepsine.

Tous ces résultats nous amènent à constater que l'activité diastasique est due à une quantité tout à fait minime de matière et les suppositions que l'on a fait, sur la nature de ces agents, sont encore loin d'être appuyées sur des bases expérimentales suffisantes.

II

FILTRATION DU SUC PANCRÉATIQUE

Je me suis servi de suc pancréatique de chiens porteurs de fistule temporaire du canal de Wirsung, et injectés de sécrétine. On sait que les sucs ainsi obtenus sont assez comparables au suc physiologique (suc de fistule permanente recueilli par cathétérisme) [1] et qu'ils peuvent en général être considérés comme inactifs. En effet, un cube découpé dans du blanc d'œuf bouilli, immergé dans quelques centimètres cubes d'un pareil suc, lorsque toutes les précautions ont été prises pour que celui-ci ne soit pas souillé, demeure intact très longtemps. Cependant, si le cube a été au préalable stérilisé dans de l'eau physiologique, comme cela a été pratiqué par Malfitano, on voit que le blanc d'œuf se transforme peu à peu en une gelée transparente; le cube garde sa forme, il est vrai, mais il s'émiette et se dissout en agitant violemment. Dans ces conditions, est-ce que le suc peut s'activer par des traces de chaux déplacée de l'albumine pendant le chauffage en milieu salé? Ou bien est-ce que l'albumine est devenue plus facilement digestible ?

Filtrons un suc tout fraîchement recueilli dans des conditions d'asepsie, l'on obtient un liquide filtré, qui est absolument inactif, qui ne modifie plus les cubes chauffés dans l'eau physiologique.

1. Delezenne et Frouin, *C. R. Soc. de Biologie*, 1902, p. 691.

Ce suc filtré devient seulement actif lorsqu'on y ajoute de la kinase. Je dis seulement parce que l'addition de sels de chaux, qui peuvent activer le suc pancréatique, ainsi que M. Delezenne[1] l'a établi, est inefficace sur le suc filtré.

La membrane en collodion retient une quantité appréciable de matière. Voici un exemple :

	Suc primitif.	Suc filtré.
	Grammes.	Grammes.
Matières fixes dans 100 c.c.	2,082	1,608
Cendres totales	0,980	0,976

Malgré cette perte de matière, le suc filtré ne paraît pas affaibli, son pouvoir digestif après activation par la kinase est comparable à celui du suc primitif.

Des cubes d'albumine, stérilisés à 105° dans l'eau physiologique, maintenus à 40°, immergés dans le :

				Après 6 heures.	Après 24 heures
Suc pancréatique.		Primitif..	Seul....	Intact.......	Arêtes transparentes.
—	—	Filtré....	Seul....	Intact.......	Intact.
—	—	Primitif..	Kinasé..	Transparent.	Dissous.
—	—	Filtré....	Kinasé..	Transparent.	Dissous.

Pour mieux saisir s'il y avait des différences, j'ai employé les petits tubes gradués remplis de gélatine solide à 20 0/0, que l'on immerge dans le liquide diastasifère, selon la méthode extrêmement sensible imaginée par Malfitano, qui permet une appréciation plus précise. J'indique la longueur du cylindre de gélatine dissoute à la température du laboratoire[2] :

	Après 24 heures.
Suc primitif seul	0
— filtré seul	0
— primitif kinasé	7,0
— filtré kinasé	6,5

On voit que cette diminution d'activité après filtration ne correspond pas à la quantité de matière retenue, qui représente 1/5 de la matière totale.

Le suc pancréatique, abandonné à lui-même après un certain temps, peut spontanément, ou par l'intervention de

1. Delezenne, *C. R. Soc. de Biologie*, 18 nov. 1905.
2. *C. R. Soc. de Biologie*, janvier 1904.

microbes, devenir actif; dans ce cas, après filtration, l'activité est diminuée, mais l'on n'obtient jamais plus un liquide complètement inactif.

Je reviendrai sur cette question avec plus de détails dans le chapitre où j'étudierai la filtration de sucs pancréatiques kinasés.

III

FILTRATION D'UN LIQUIDE CONTENANT LA KINASE

La kinase dont je me suis servi était celle préparée par la maison Carrion, et qui se présente sous forme d'une poudre sèche très peu soluble. Je préparai mes liquides en mettant à macérer 1 ou 2 grammes de cette poudre dans 100 c. c. d'eau distillée. Après quelques heures, l'on filtrait au papier d'abord et à la bougie Berkfeld ensuite, pour obtenir un liquide stérile, les appareils portant les sacs en collodion étaient aussi stérilisés au préalable.

Ces liquides kinasiques étaient parfaitement clairs, à peine opalescents et contenaient très peu de matière dissoute. C'est même cette raison qui a fixé mon choix; si j'avais en effet opéré avec du suc intestinal, qui est très dense et riche en débris cellulaires, les résultats auraient été moins significatifs.

En partant d'une même solution de kinase, j'ai préparé trois portions différentes, l'une laissée telle quelle, que j'appellerai la kinase primitive; l'autre était le même liquide après filtration au collodion : kinase filtrée ; enfin, la filtration ayant été poussée jusqu'au bout, je laissais macérer le sac dans un volume d'eau égal à la quantité de solution mise à filtrer, c'est le liquide que j'appelle kinase du résidu. De chacun de ces trois liquides, j'ai fait des mélanges en parties égales avec du suc pancréatique de fistule.

Après m'être assuré que cette solution de kinase ne possédait aucune action digestive propre et avoir essayé séparément le suc pancréatique avec lequel je préparais les mélanges, pour savoir à quel point celui-ci pouvait digérer, indépendamment de la kinase ajoutée, je procédais à l'appréciation du pouvoir protéolytique dont voici un exemple :

Liquéfaction de la gélatine à 20 0/0 (5 c. c. de cette gélatine mélangée avec 1/10 de c. c. des mélanges de suc pancréatique et de kinase maintenue à 40° et refroidie ensuite à 15°).

	Après 1 heure.	Après 3 heures.
Mélange avec kinase primitive.	Liquide.	Liquide.
— — — filtrée....	Solide.	Solide.
— — — résidu....	Semi-liquide.	Liquide.

Cubes de blanc d'œuf stérilisés dans la solution physiologique et plongés dans 2 c. c. des mélanges à 40°.

	Après 6 heures.	Après 24 heures.
Mélange avec kinase primitive.	Presque complètement transparent.	Dissous.
— — — filtrée....	Intact.	Intact.
— — — résidu ...	Arêtes transparentes.	Presque complètement dissous.

Voici d'autre part les chiffres d'une analyse exécutée sur 100 c. c. du liquide en question :

	Matières fixes à 105° 110°	Cendres totales.	Cendres insolubles.
	Grammes.	Grammes.	Grammes.
Avant filtration....	0,2229	0,0605	0,0071
Après filtration.............	0,2530	0,0590	0,0066

L'on voit que la diminution porte sur 1/7 environ de la matière totale, et qu'ici il est manifeste que la matière retenue contient des cendres.

Le liquide filtré est dépourvu complètement d'activité kinasique. Comme dans le cas précédent, je ne crois cependant pas qu'il faille considérer la totalité de la matière retenue comme étant la diastase. Il suffit, en effet, de s'adresser à des liquides provenant d'une macération prolongée plus longtemps et qui peuvent contenir une plus grande quantité de matières dissoutes, tout en ayant le même pouvoir kinasique et alors le résidu de la filtration est plus abondant.

IV

FILTRATION DE MÉLANGES DE SUC PANCRÉATIQUE ET DE LIQUIDE KINASIQUE

Les résultats que je viens d'exposer suggèrent naturellement l'idée de chercher à séparer, dans un mélange actif de kinase plus suc pancréatique, ces deux facteurs de l'activité protéolytique.

Prenons d'abord un mélange en parties égales de liquide kinasique à 1 0/0, stérile après filtration à la bougie, et de suc pancréatique de fistule; filtrons un pareil mélange, qui est, très actif, comme on le sait, nous obtiendrons: d'une part, un liquide filtré presque complètement dépourvu d'activité protéolytique et qui, par addition d'une nouvelle quantité de kinase, redevient faiblement actif et, d'autre part, en mettant à macérer le sac ayant servi à la filtration, un liquide qui doit contenir exclusivement la kinase, car il n'agit pas seul sur l'albumine, mais il active une nouvelle portion de suc pancréatique.

Voici les résultats de l'examen du pouvoir protéolytique de ces différents liquides :

Cubes de blanc d'œuf bouillis, stérilisés dans l'eau physiologique. Après 24 heures de digestion à 40°.

Mélange primitif....................	Complètement dissous.
— filtré........................	Presque intact.
— résidu.....................	Intact.
— filtré + kinase............	Arêtes transparentes.
— résidu + suc pancréatique.	Presque complètement dissous.

Dans ces conditions, l'on pourrait admettre que la séparation est possible, c'est-à-dire que, en partant d'un mélange actif, l'on puisse avoir la kinase d'une part et le suc pancréatique d'autre part, redevenus inactifs. Seulement, cette séparation n'est réalisable que dans des conditions assez étroites.

En effet, prenons maintenant un mélange de 37 parties en volume de suc pancréatique avec 3 parties de solution de kinase à 1 0/0. Ce mélange est tout aussi actif, même un peu plus que le précédent, celui qui avait été fait à parties égales. Après filtration, son activité n'a fait que s'affaiblir légèrement et sans qu'on l'additionne de nouvelle kinase, il digère l'albumine. Le liquide dans lequel on avait fait macérer le sac est inactif pris

isolément, mais il contient de la kinase capable d'activer du nouveau suc pancréatique. Voici les résultats obtenus en opérant dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente :

Mélange total	Dissolution complète.
— filtré	Reste un petit cube transparent.
— résidu	Intact.
— filtré + kinase	Reste un petit cube transparent.
— résidu + suc pancréatique	Dissolution presque complète.

Dans ces nouvelles conditions, le suc pancréatique paraît donc avoir emporté au travers de la membrane une partie au moins de la kinase. Tandis que sur le filtre, il ne reste sensiblement rien de l'agent du suc pancréatique, mais seulement de la kinase.

Prenons enfin un mélange contenant 37 parties de solution kinasique et 3 de suc pancréatique. Ce mélange digère plus lentement que les précédents, qui sont plus riches en suc pancréatique, il désagrège le cube d'albumine et le dissout complètement. Après filtration, il a perdu toute activité, et l'addition de kinase ne lui sert de rien. Le liquide où l'on a mis le sac à macérer est, par contre, doué d'un pouvoir kinasique normal.

Mélange total	Résidu floconneux.
— filtré	Intact.
— résidu	Intact.
— filtré + kinase	Intact.
— résidu + suc pancréatique	Dissous complètement.

L'on voit ainsi que la matière kinasique est toujours retenue par la membrane, mais elle ne garde rien de l'agent qui se trouve dans le suc pancréatique. Celui-ci est pour ainsi dire disparu pendant la filtration. Sur le filtre, il ne reste que de la kinase prête à agir sur une nouvelle portion de suc pancréatique.

L'hypothèse que les phénomènes de protéolyse soient exclusivement dus à une action concomitante des deux agents, ne paraît pas suffisante à expliquer ces phénomènes et surtout à nous renseigner pourquoi le mélange riche en suc pancréatique demeure actif après la filtration, et pourquoi au contraire il ne reste que la kinase sur la membrane.

Une autre hypothèse a été émise : les deux matières se fixeraient l'une sur l'autre et sur les albumines à digérer.

Je pouvais expérimentalement résoudre la question suivante : la quantité de matière retenue est-elle la même, soit que l'on filtre séparément le suc pancréatique d'une part et le liquide kinasique de l'autre, soit que l'on filtre le mélange déjà fait de ces deux liquides?

On prend une solution de kinase contenant un résidu sec de $0^{gr},344$ 0/0 qui, après filtration, est de $0^{gr},266$; et un suc pancréatique contenant un résidu sec de $1^{gr},824$ qui, après filtration, est de $1^{gr},188$.

Le mélange en parties égales des deux liquides non filtrés laisserait un résidu sec de $1^{gr},082$ 0/0.

Le mélange en parties égales des deux liquides filtrés séparément laisserait un résidu de $0^{gr},727$ 0/0.

Or, si l'on mélange le même suc pancréatique avec un volume égal de la même solution de kinase et qu'on filtre ensuite, le résidu trouvé est de $1^{gr},021$ 0/0.

La proportion de matière que la membrane retient lorsque l'on filtre séparément les 2 liquides est de 35 centièmes et lorsque l'on filtre les deux liquides réunis ensemble, seulement de 6 centièmes.

Ce chiffre est de beaucoup inférieur à celui qui aurait fourni la matière du suc pancréatique contenu dans ce mélange, 30 centièmes environ; tandis que la matière apportée par la kinase, si elle avait été seule retenue par la membrane, aurait dû être moins 3 centièmes environ.

La matière restée sur le filtre ne possède que la fonction kinasique; cependant, elle contient quelque chose en plus que la matière apportée avec le liquide kinasique.

Il n'y a pas lieu, on le voit, d'envisager les matières retenues comme étant seulement les diastases.

D'autre part, il est évident que la matière du suc pancréatique doit s'être modifiée en présence de la kinase.

Je me suis assuré que ces différences dans les quantités de résidu sec, que j'ai souvent constatées, ne provenaient pas des différences de perméabilité des membranes. En effet, dans les essais faits comparativement avec un certain nombre d'appareils, j'ai trouvé que l'erreur ne dépassait pas 1 à 2 milligrammes.

J'ai constaté en plus qu'il suffit d'avoir chauffé au préalable

la kinase pour que la matière du suc pancréatique ne soit pas modifiée.

Cette modification de la matière contenue dans le mélange de kinase et de suc pancréatique se fait progressivement.

On mélange 100 c. c. de suc pancréatique avec 10 c. c. de solution de kinase et on laisse à la température du laboratoire. En filtrant successivement des portions de 15 c. c. de ce mélange, on obtient une série de liquides filtrés dont 10 c. c. servent au dosage de la matière sèche et des cendres.

Voici les chiffres obtenus :

	Matières sèches.	Cendres totales.
Filtré aussitôt le mélange fait.........	0,1424	0,0986
— après 5 heures..................	0,1510	0,0980
— — 15 —	0,1852	0,0968
— — 24 —	0,1888	0,0970
24 heures à 35°...........	0,1922	0,0990

L'on voit nettement que dans le mélange a lieu une modification progressive, par laquelle la matière organique devient de plus en plus apte à traverser la membrane, tandis que la matière minérale ne paraît pas changer sensiblement.

L'on peut dire que le mélange contenait des micelles qui, par leurs dimensions, étaient arrêtées et ensuite ces micelles sont devenues petites et ont pu passer au travers de la membrane. C'est un véritable phénomène de protéolyse qui s'accomplit au sein de ce mélange de kinase et de suc pancréatique. M. Delezenne a déjà signalé le fait suivant : la matière du suc pancréatique est en partie coagulable lorsque celui-ci est fraîchement recueilli, ou même lorsqu'il a été conservé en bonnes conditions, il garde alors en même temps son activité potentielle. Par contre, lorsqu'on y ajoute la kinase, ou si le suc est par lui-même actif, la matière coagulable tend à disparaître dans le suc pancréatique et le pouvoir protéolytique actuel et potentiel tend à disparaître.

Ces faits ont amené à concevoir la kinase comme une matière capable de transformer le zymogène (la diastase en puissance mais encore inactive) qui se trouve dans le suc pancréatique en un enzyme actif, qui dès lors tend à se détruire lui-même par autolyse.

L'on peut trouver que les faits que je viens d'exposer

parlent en faveur de cette conception. Seulement, il faut se demander si une pareille manière de voir nous aide vraiment à nous rendre compte de tous les phénomènes.

Les recherches qui avaient été faites pour savoir si les diastases sont des corps dialysables, ou s'ils sont retenus par les membranes, n'avaient abouti à aucun résultat certain. M. Lévy[1], lui aussi, a filtré au travers de sacs en collodion des liquides diastasifères, et il s'est contenté de constater que certains de ces liquides demeurent actifs après filtration et que d'autres perdent leur activité. J'ai cherché plutôt à suivre les changements de l'équilibre chimique et de la composition amenés dans les liquides diastasifères par ce genre de filtration.

Une conclusion générale se dégage de mes expériences, c'est que la quantité de matière capable de jouer un grand rôle comme agent diastasique doit être tout à fait minime. Elle est encore en dehors de la portée de nos moyens analytiques. Il faut écarter tous les résultats des recherches où l'on a envisagé une matière donnée comme étant la diastase pure. Au moment actuel de nos connaissances, il faut convenir que toutes les conceptions exprimées sur la véritable nature des diastases n'ont pas de bases expérimentales suffisantes.

Les résultats modestes de ces recherches pourront ne pas paraître inutiles, si l'on tient compte surtout du grand intérêt qui s'attache à l'étude de ces questions par la méthode de filtration au collodion.

1. I. Lévy, *Journal of Infections Diseases*, t. II; janvier 1905.

Observations sur la piroplasmose des bovidés d'Indo-Chine

et Constatation de piroplasmose chez les buffles.

PAR H. SCHEIN

Vétérinaire inspecteur des épizooties de l'Indo-Chine,
Chargé du service vétérinaire à l'Institut Pasteur de Nha-Trang.

Les examens répétés du sang des bovidés de Nha-Trang nous ont montré que les piroplasmes à aspects *bacillaire* et *ovoïde* étaient bien plus fréquents que la forme en *poire bigéminée*. La série des dessins que nous avons faits en 1907 montre que la forme en *poire bigéminée* ne se trouvait que chez les animaux chez qui la peste bovine évoluait, et ne se rencontrait plus chez les sujets guéris ou encore non inoculés, ou chez les bêtes de travail.

Miyajama et Shibamaya avaient fait, au Japon, des observations analogues.

Ces constatations nous ont amené à suivre, par des examens répétés aussi souvent que nous l'avons pu, les variations de la fréquence des diverses formes chez un même sujet.

Toutes nos observations concordent, nous ne donnerons que celles des animaux qui ont pu être le plus régulièrement suivis.

Observation 1. — *H.* 733, génisse brune, 18 mois environ, inoculée de peste bovine le 8 avril, la réaction thermique commence le 11 au soir (40°,3), est à son maximum le 14 (41°,3), puis décroît.

1er examen, le 15, montre des formes en *poire bigéminée*, une pour trois champs environ et des formes bacillaires.

Fig. 1.    

2e examen le 25, négatif.

3e examen le 26, formes bacillaires nombreuses, une par champ, vu une forme ovoïde, un pôle coloré en rouge, le reste du corps non coloré.

Fig. 2.   

4e examen le 27, forme bacillaire, une pour deux champs.

5e examen le 29 au matin, forme bacillaire, une pour cinq champs environ.

Le 30, formes bacillaires, une pour dix champs.

Le 1er mai, mêmes formes, même fréquence.

Le 2 mai, examen négatif.

Le 3 mai, forme bacillaire, une par champ.



Fig. 3.

Le 4 mai, forme bacillaire, une pour trois champs.

Le 5 mai, mêmes formes, même fréquence.

Le 7 mai, mêmes formes, même fréquence.

Le 8 mai, mêmes formes, même fréquence.

Le 10 mai, forme bacillaire plus rare, une pour quinze champs.

Le 13 mai, forme bacillaire, une pour deux champs.

H. 733, meurt dans la nuit du 13 au 14 mai.

Observation 2. — Le veau H. 734 a été inoculé en même temps que le précédent, le 8 avril. Il réagit d'une façon analogue, et ne meurt que le 22 mai. On n'a jamais vu de piroplasme dans son sang au cours de 22 examens.

Observation 3. — H. 735, veau mâle de 16 à 18 mois est examiné le 14 avril. Il présente un piroplasme pour 4 champs, comme le montre la figure 4, formes bacillaires et ovoïdes.



Fig. 4.

H. 735 est inoculé de peste bovine le 15 avril, il reçoit 1 centimètre cube de liquide de lavage du péritoine de H. 734.

La réaction s'esquisse le 19 avec 39°,7, et est à son maximum le 20 au soir avec 41°,6, la température décroît ensuite.

Le 20, H. 735 montre des formes bacillaires, une pour trois champs,

Le 24, H. 735 montre un piroplasme par champ, on voit de nombreuses formes en *poires bigéminées*, des formes *amiboïdes*, des formes libres, des formes bacillaires et ovoïdes, des formes de *division en quatre*, etc.

Fig. 5.

Le 25, H. 735 montre des formes bacillaires et ovoïdes assez fréquentes (1 pour deux champs), les formes en poires bigéminées ont presque disparu, on n'en peut voir qu'une après une recherche prolongée.

Le 26, formes bacillaires et ovoïdes très fréquentes, deux par champ, on ne voit plus de formes en poires bigéminées.


Fig. 6.

Le 27, mêmes formes, même fréquence.

Le 28, mêmes formes, même fréquence.

Le 29, mêmes formes, une par champ seulement.

Le 30, mêmes formes, moins fréquentes, une pour cinq champs environ.

Le 1er mai 1908, mêmes formes, même fréquence.

Le 2 mai, forme bacillaire, une pour deux champs.

Le 3, mêmes formes, même fréquence.

Le 4, formes bacillaires, une pour trois champs.

Il semble qu'on assiste à une division des formes bacillaires. Sur cette préparation on en voit assez souvent deux par globule, ce que nous n'avions jamais vu auparavant, certaines semblent une sorte de stade préparatoire à la division en quatre.


Fig. 7.

Le 5, formes bacillaires, une pour cinq champs.

Le 6, formes bacillaires nombreuses, deux par champ, *formes bigéminées en poires*, une pour dix champs environ.

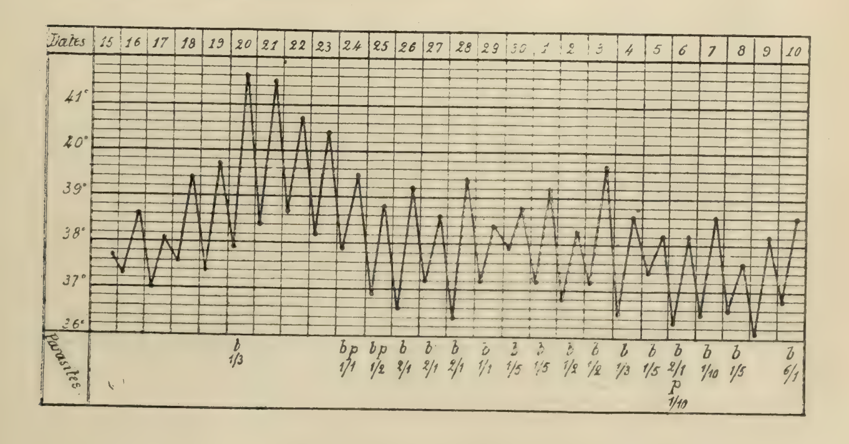

Fig. 8.

Le 7, formes bacillaires, une pour dix champs, les formes en poires bigéminées ont disparu.

Le 8, formes bacillaires un peu plus fréquentes, une pour cinq champs.

Le 10, formes bacillaires très nombreuses, six par champ.

H. 735 meurt dans la nuit du 10 au 11.



Observation 4. — H. 737, veau mâle gris, est inoculé le 22 avril avec un centimètre cube de liquide du lavage péritonéal de H. 735.

Avant qu'il commence à réagir, le 24, son sang est examiné. Il montre des piroplasmes, à forme bacillaire, un pour six champs.

Le 25 mai, réaction thermique à 41°,1 (c'est la réaction maxima) ; le sang examiné ne montre plus de piroplasmes.

Le 26, forme bacillaire très rare, une pour quinze champs.

Le 27, vu un seul parasite, ovoïde, dans toute la préparation.

Le 29. vu un seul baciliforme.

Le 29, vu un seul.

Le 30, formes bacillaires, une pour dix champs.

Le 1er mai, pas vu de parasites.

Le 2, très rares bacilliformes, un pour quinze champs.

Le 3, mêmes formes, une pour dix.

Le 4, pas vu de parasites.

Le 5, pas vu de parasites.

Le 6, pas vu de parasites.

Le 7, très rares bacilliformes, un pour vingt champs.

Le 8, mêmes formes, une pour dix champs.

Le 9, mêmes formes, une pour huit champs.

Le 10, mêmes formes, une pour quinze champs.

Le 11, mêmes formes, une pour dix champs.

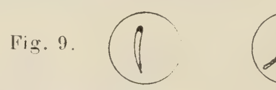
Le 15, rien vu.

Le 16, H. 737 meurt.

Cet animal n'a donc *jamais présenté* de formes *en poires bigéminées.*

Observation 5. — H. 738, jeune génisse, est inoculée en même temps que H. 737, avec la même matière virulente : elle reçoit, le 22 avril, un centimètre cube de liquide de lavage péritonéal de H. 735.

Le 24 avril, avant l'apparition de l'hyperthermie, on examine le sang ; on trouve des piroplasmes bacilliformes et ovoïdes, un pour trois champs.


Fig. 9.

Pas de formes en poires bigéminées.

Le 26, piroplasmes, un pour trois champs environ, formes bacillaire et ovoïde, parmi ces dernières certaines bien développées, le corps prenant bien la couleur bleue, semblent intermédiaires entre la forme ovoïde ordinaire et la forme bigéminée, mais elles ne sont pas bigéminées.


Fig. 10.

Le 27, les piroplasmes diminuent de fréquence, un pour cinq champs, les formes ovoïdes sont très rares, les formes bacillaires prédominent de beaucoup.



Le 28, mêmes formes, même fréquence.

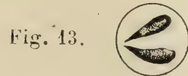
Le 29, mêmes formes, même fréquence.

Le 30, formes bacillaires très rares.

Le 1er mai, formes bacillaires, une pour quatre champs, on voit une forme *amiboïde bigéminée*, et une *amiboïde simple*, dans la préparation.




Le 2 mai, au soir, on trouve des formes en *poires bigéminées*, une pour cinq champs, de grandes formes *amiboïdes uniques*. Les formes bacillaires sont très rares.




Le 3, à midi, les formes *bigéminées* en poire se raréfient, on n'en voit que trois dans la préparation; de même pour les formes *amiboïdes*, dont on ne voit que deux.

Les formes bacillaires sont plus fréquentes, une pour cinq champs.

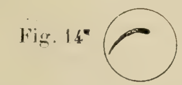
Le 3, au soir, les formes en poires ont disparu, il n'y a plus que des formes bacillaires, une pour cinq champs.

Le 4, formes bacillaires, une pour trois champs.

Le 5, formes bacillaires et ovoïdes, une pour deux champs.

Le 6, formes bacillaires, une pour deux champs.

Le 7, mêmes formes, même fréquence, on voit des formes de division en quatre.






Le 8, mêmes formes, sauf celles de division en quatre qui ont disparu, même fréquence des autres formes.

Le 9, mêmes formes, moins nombreuses, une pour quatre champs.

Le 10, mêmes formes, même fréquence.

Le 12, mêmes formes (bacillaire), une par champ.

Le 13, formes bacillaires, une pour quatre champs.

Le 14, mêmes formes, même fréquence.

Le 15, mêmes formes, même fréquence.

Le 16, mêmes formes, plus rares, un parasite pour huit champs.

Le 17, encore plus rares, un pour douze champs.

Le 18, mêmes formes aussi rares.

Le 19, mêmes formes aussi rares.

Le 20, mêmes formes aussi rares. On voit quelques aspects ovoïdes.

H. 738 meurt le 23 avril.

Observation 6. — H. 740, génisse de quatorze mois, inoculée le 29 avril avec un centimètre cube de sérosité du H. 737.

Le 5 mai, formes bacillaires, une pour huit champs.

Le 6, formes en *poire bigéminée*, une pour quinze champs, formes bacillaires, une pour quatre.

Le 7, formes en *poires bigéminées*, une pour huit champs, forme bacillaire une pour quatre.

Le 8, formes en poires, une pour huit champs, formes bacillaires, une pour dix.

Le 9, formes bacillaires seules, une pour dix champs.

Le 10, formes bacillaires, une pour six champs, vu une forme de division en quatre.

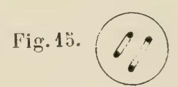
Le 12, formes bacillaires, une par champ.

Le 13, formes bacillaires, une pour trois champs,

Le 15, formes bacillaires, une pour cinq champs, quelques formes ovoïdes.

Le 16, formes bacillaires, une pour dix champs.

Le 17, formes bacillaires, une pour trois champs, vu une forme semblable aux formes préparatoires à la division en quatre, signalées pour H. 735, le 4 mai.


Fig. 15.

Le 18, formes bacillaires, une pour trois champs, formes de division en quatre et formes ovoïdes.

Fig. 16.





Le 19, formes bacillaires, une pour trois champs.

H. 740 meurt le 20 mai.

Conclusions. — 1° La forme en *poires bigéminées* est, de beaucoup, la plus rare des formes piroplasmiques observées;

2° Quand cette forme apparaît, ce n'est que de façon transitoire, pendant trois jours environ;

3° Nous ne l'avons vu apparaître que sur des animaux souffrant de peste bovine, au moment de la réaction thermique maximum, c'est-à-dire du septième au dixième jour après l'inoculation;

4° Certains animaux ne montrent que la forme bacillaire, et jamais la forme *bigéminées en poires*.

ADDENDA

Toutes les recherches précédentes ont porté sur la petite race bovine des deltas d'Indo-Chine. Nous avons voulu voir si les buffles « Kérabau » de la région de Nha-Trang étaient aussi parasités.

Sur dix-huit buffles examinés, six présentaient des piroplasmes, la forme ovoïde plus fréquente que la forme bacillaire, et celle-ci, plus petite, plus ramassée que chez le bœuf, sauf dans un cas où elles nous ont paru identiques : c'était chez un animal très âgé, qui souffrait d'une fracture de la cuisse.

Nous n'avons jamais vu de formes en poires bigéminées, mais nous n'avons pu voir de buffle en évolution de peste bovine.

A notre connaissance, aucun auteur n'avait encore signalé la piroplasmose chez le buffle.

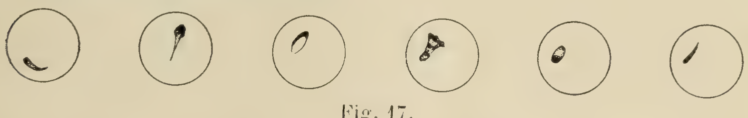


Fig. 17.

Si presque tous les bovins et bubalins de la province de Nha-Trang sont infectés, il n'en est pas de même dans toutes les autres provinces de l'Annam.

Nous avons examiné, à Hué, le sang de plus de 400 bœufs provenant de la province de Ha-Tinh (Nord Annam), et destinés à la boucherie, et nous n'avons vu qu'un animal montrant de très rares piroplasmes ovoïdes (un pour une préparation), le sang des autres n'a rien laissé voir.

De même, le sang de plusieurs bœufs de la province de Phan-Tiêt et du plateau de Lang-Biang s'est montré exempt de piroplasmes. Là aussi, il s'agissait d'animaux en bonne santé.

ERRATA

Mémoire de MM. Tiffeneau et Marie (août).

Page 649, ligne 14, au lieu de 10 0/0, lire : 10 0/00.

Page 651, ligne 11, au lieu de *base* fort, lire : *base forte*.

Page 654, bas de la page, 3e ligne, au lieu de suft à fiannihiler, lire : suffit à annihiler.

Mémoire de MM. Mesnil et Brimont (novembre).

Page 867, 8e ligne en remontant, au lieu de 5 ou 6 0/00, lire : 5 ou 6 0/0.

Page 868, 24e ligne en descendant, au lieu de 1 0/0, lire 1 0/00.

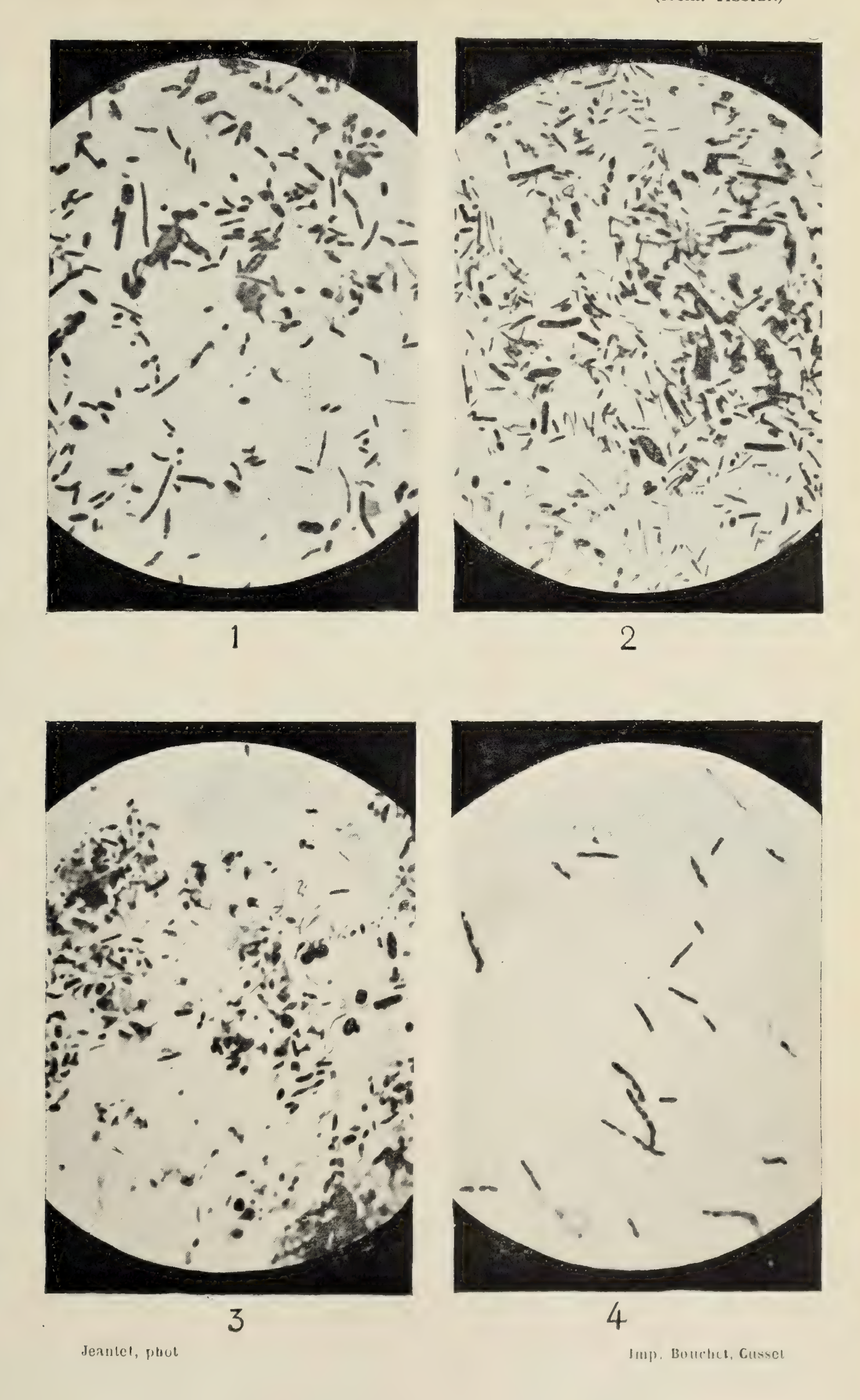
TABLE DES MATIÈRES

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TABLE DES PLANCHES

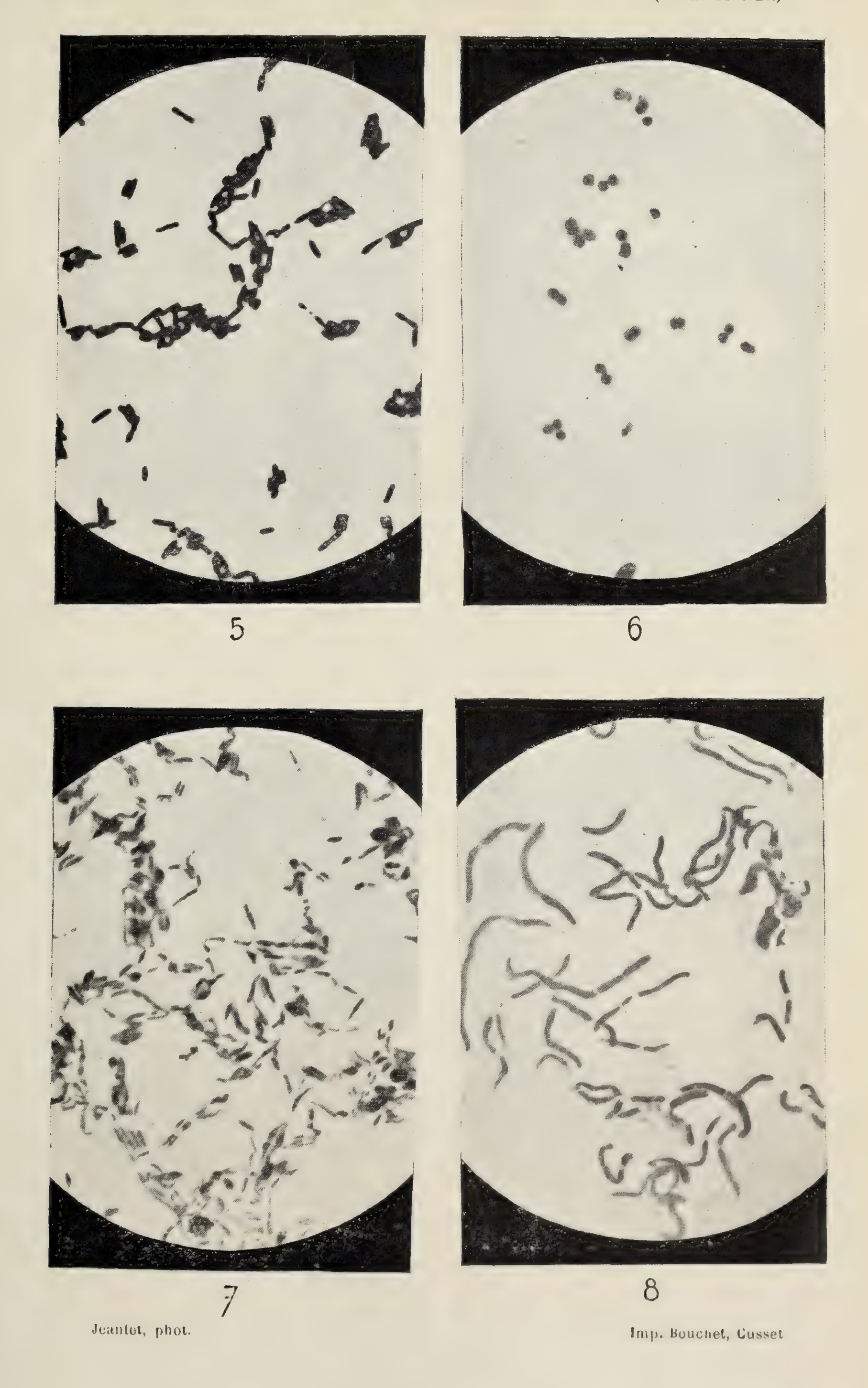
Le gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.



Jeantet, phot

Imp. Bouchet, Cusset



Jeantet, phot.

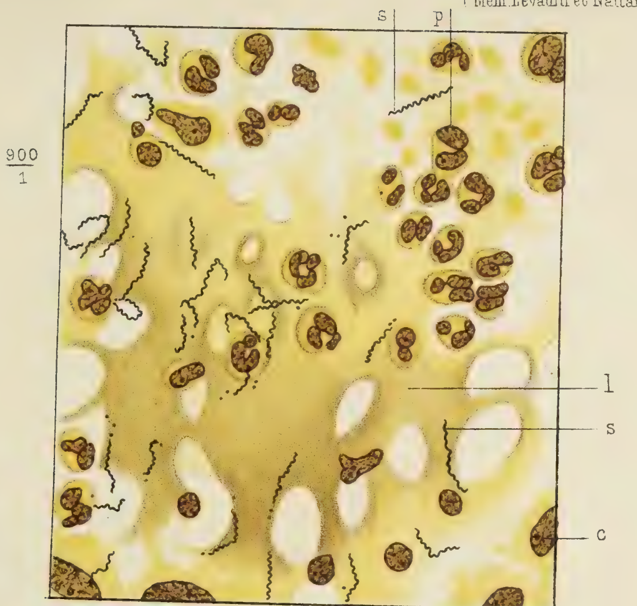
Imp. Bouchet, Cusset

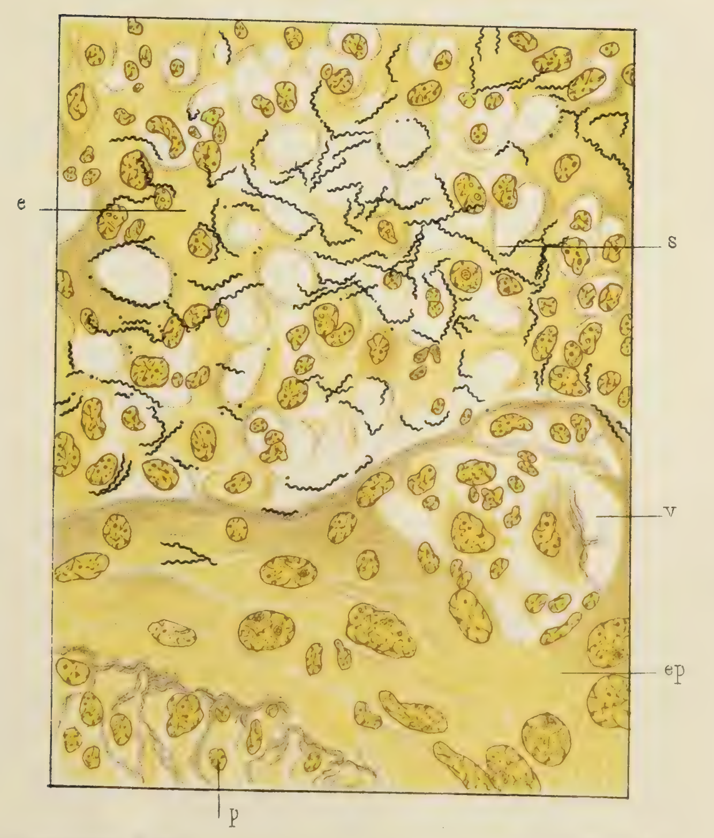


v
p
u
40/1
fp.
f
i

Ch. Constantin del. & lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris

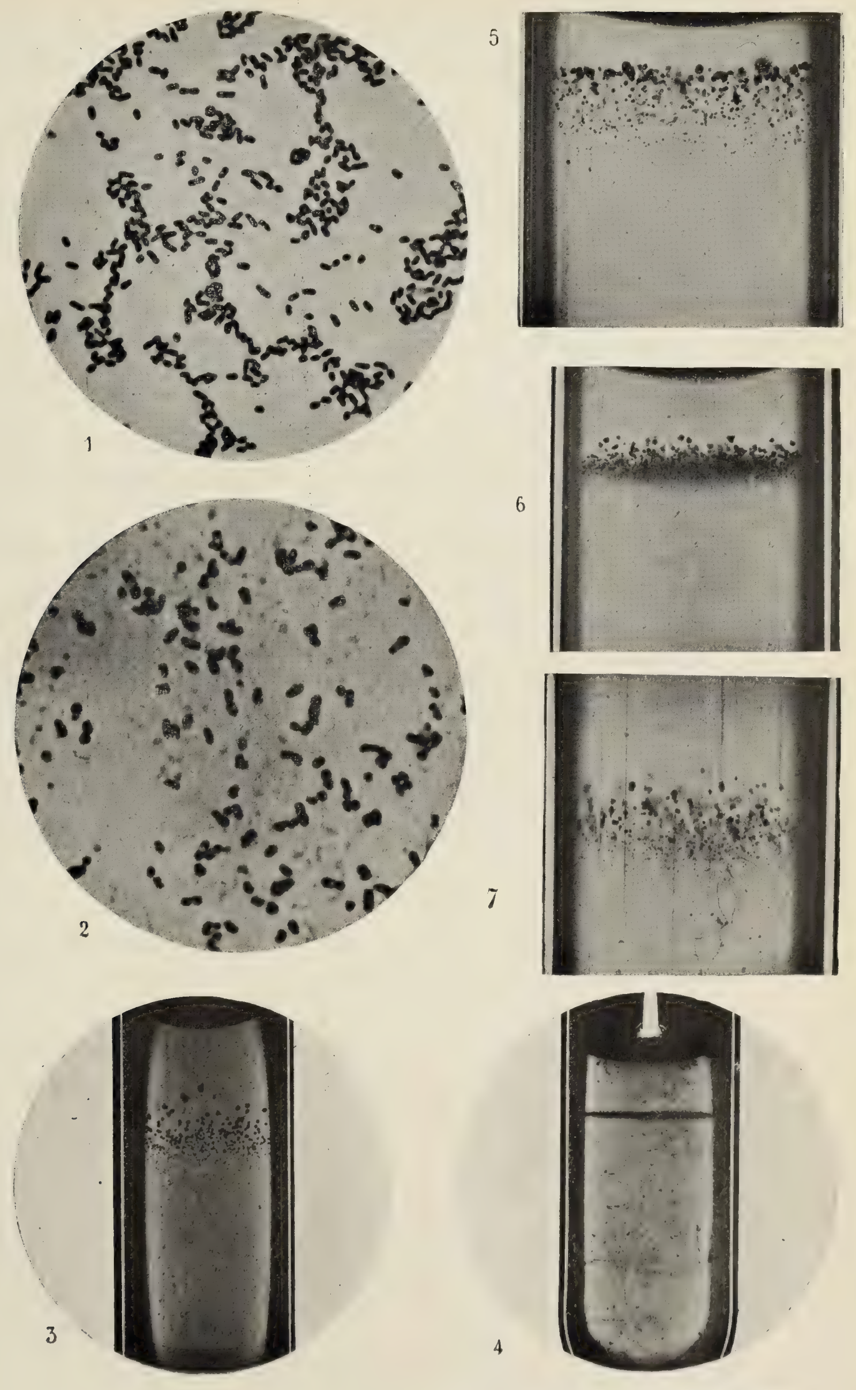




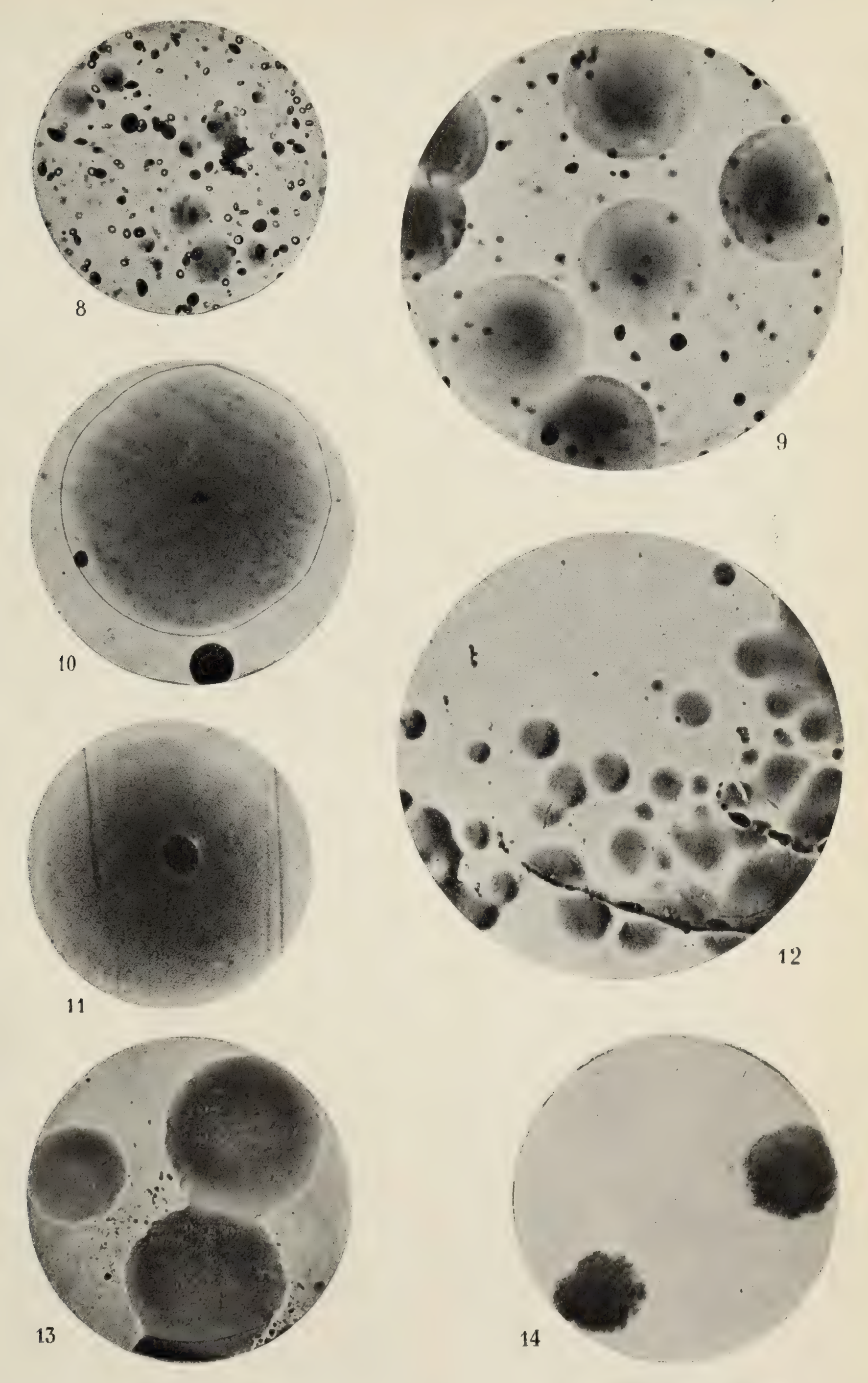
Ch. Constantin del. & lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris

VOL. XXII — PL. V.
(Mém. NOWAK)

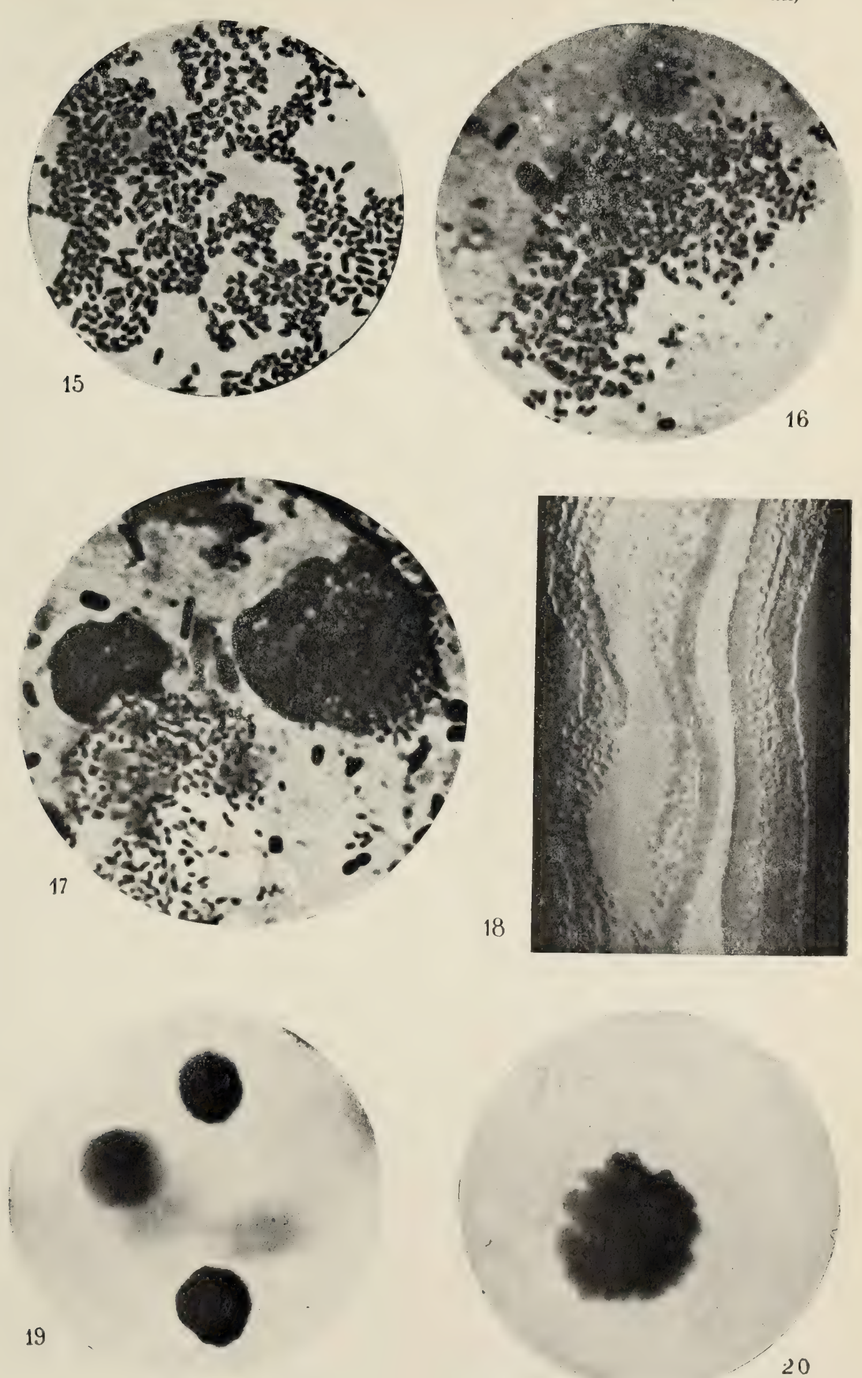


Imp. Bouchet, Cusset

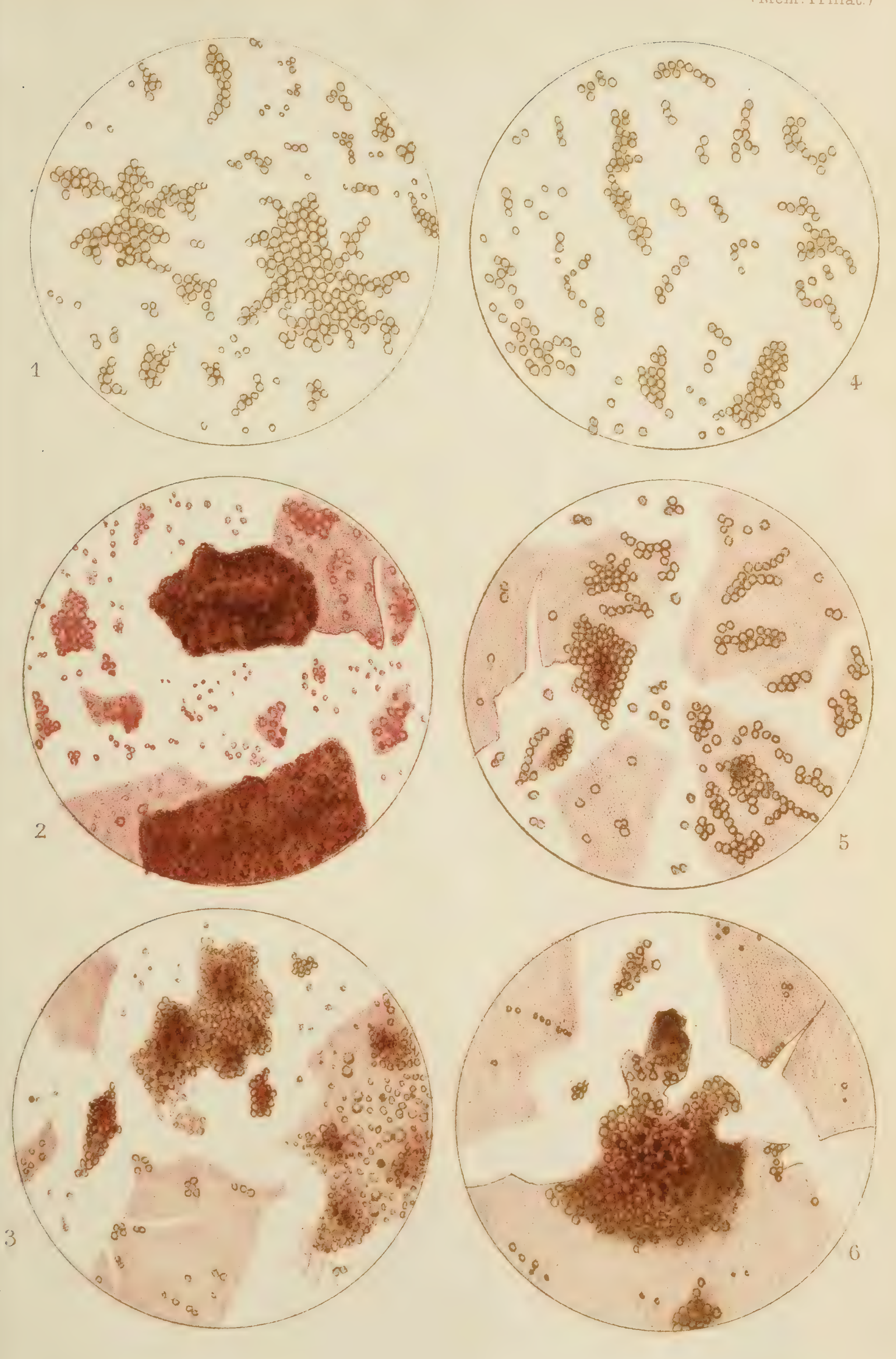


Imp. Bouchet, Cusset

VOL. XXII — PL. VII
(Mém. NOWAK)



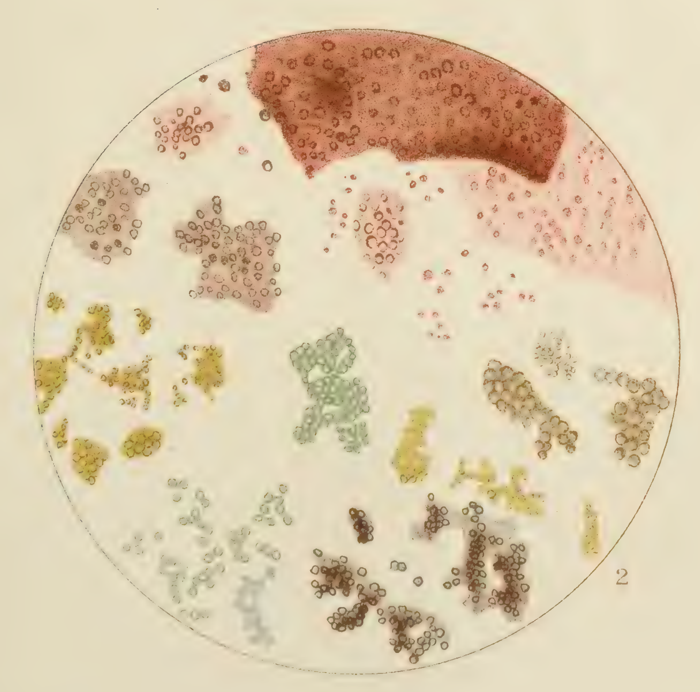
Imp. Bouchet, Cusset



V. Roussel del. & lith.

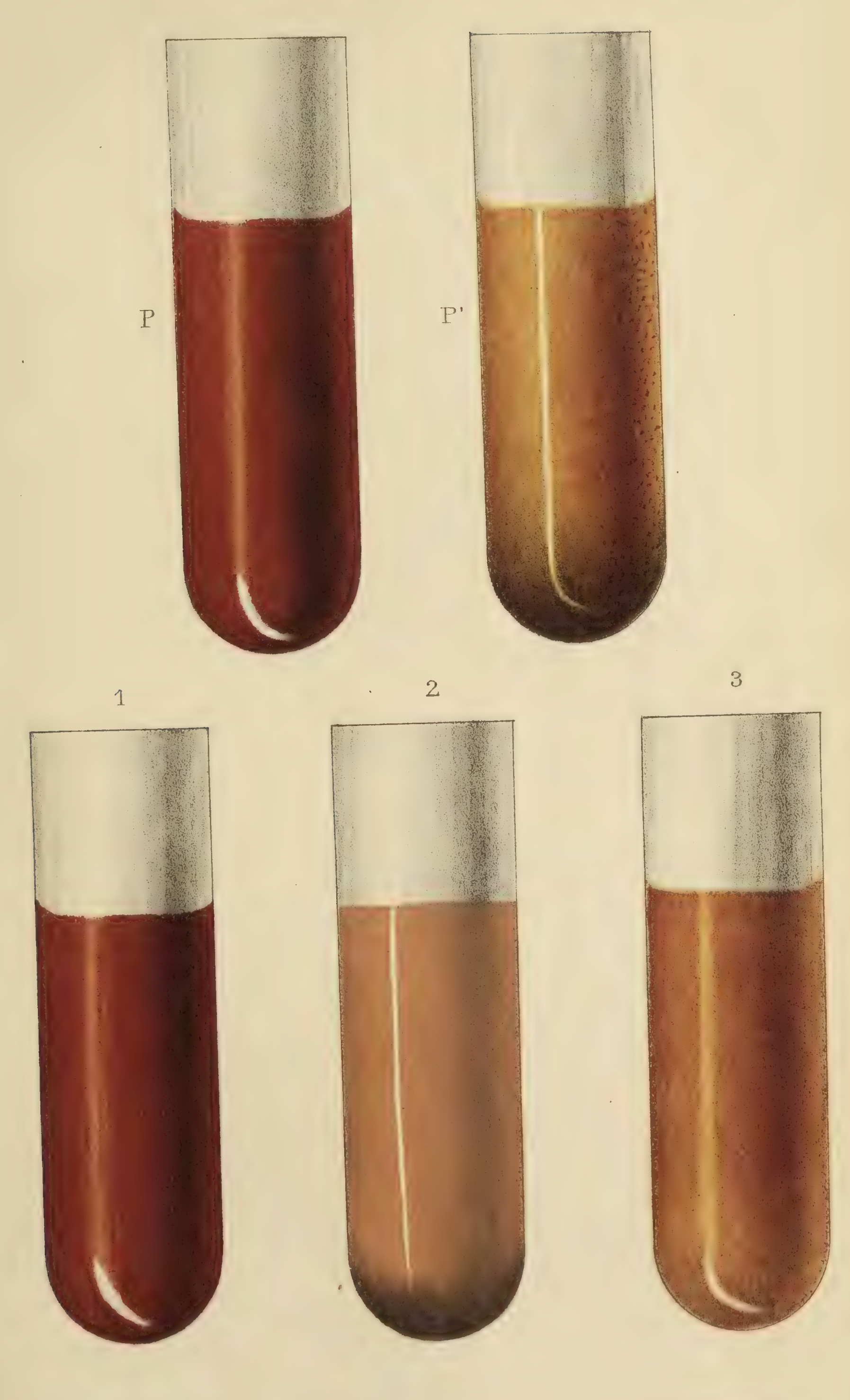
Imp. L. Lafontaine, Paris.





V. Roussel del. & lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.



V. Roussel del. & lith. Imp. L. Lafontaine, Paris.


Fig. 1.
c
e
v
s

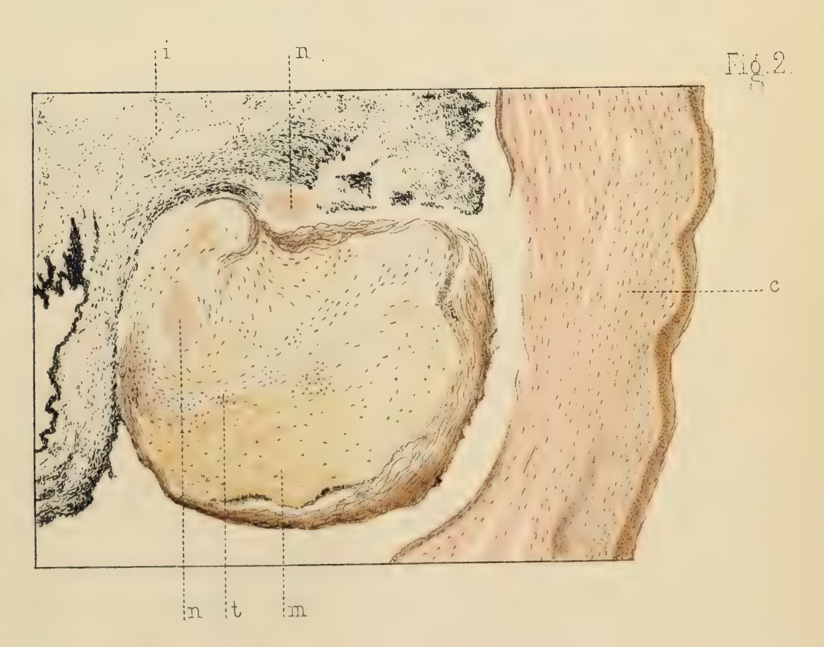

Fig. 2.
i
n
c
n
t
m

Fig. 1.

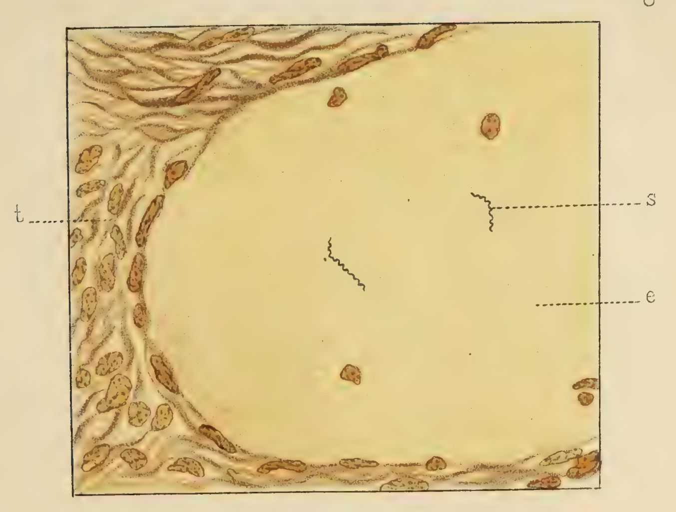


Fig. 2.

d
s
t

Constantin del. & lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris

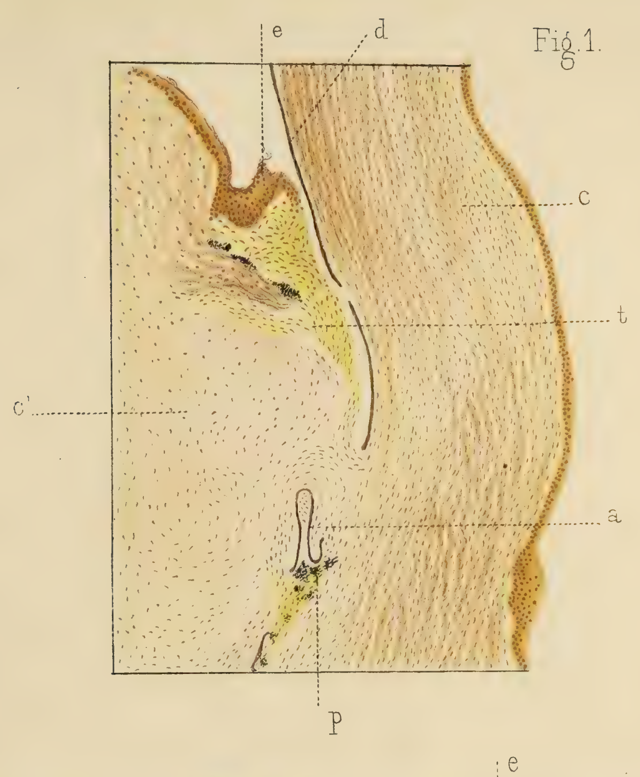
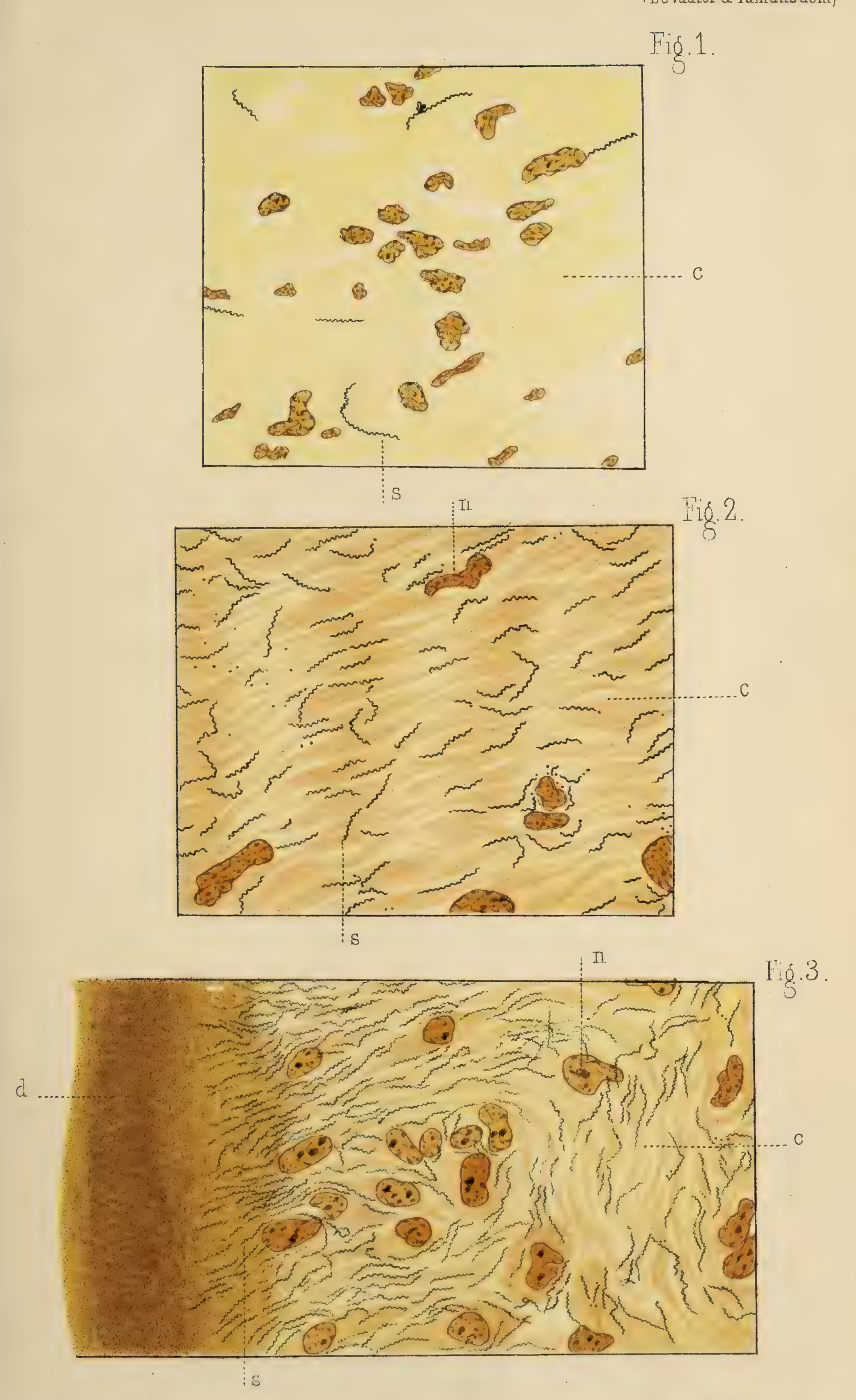


Fig. 2.

e
c
s
c'
c'



Constantin del. & lith.

Imp L. Lafontaine, Paris.

